Aus dem Institut für Klinische Physiologie, Klinikum Steglitz
der Freien Universität Berlin
Direktor: Prof. Dr. med. K. Hierholzer

Longitudinale Heterogenität des epithelialen Transports am Dickdarm der Ratte

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der medizinischen Doktorwürde
an den Medizinischen Fachbereichen
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von

Michael Fromm

Berlin

1978

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41544721_0038

Aus dem Institut für Klinische Physiologie, Klinikum Steglitz
der Freien Universität Berlin
Direktor: Prof. Dr. med. K. Hierholzer

Longitudinale Heterogenität des epithelialen Transports am Dickdarm der Ratte

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der medizinischen Doktorwürde
an den Medizinischen Fachbereichen
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von

Michael Fromm

Berlin

Referent: Prof.Dr.med. Dr.rer.nat. U. Hegel

Korreferent: Prof.Dr.med. H. Herken

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fachbereiche
der Freien Universität Berlin

Promoviert am: 30. Mai 1978

Meinen Eltern

Inhaltsverzeichnis

		Seite
1	EINLEITUNG	6
2	METHODEN	10
2.1	Tiere, Diät	10
2.2	Narkose	10
2.3	Operation	10
2.4	Darmsegmente	11
2.5	Adrenalektomie	12
2.6	Spülung	14
2.7	Perfusionsflüssigkeit	15
2.8	Perfusionsanordnung	16
2.9	Messung des Volumentransports	18
2.10	Messung des Elektrolyttransports	18
2.11	Messung der transepithelialen Potentialdifferenz	19
2.12	Kontrollgrößen	21
2.13	Registrierung	23
2.14	Auswertung	23
3	ERGEBNISSE	25
3.1	Perfusionsbedingungen	25
3.1.1	Variation der Perfusionsrate	25
3.1.2	Variation des hydrostatischen Drucks	29
3.1.2.1	Nebenversuch Ölinstillation	32
3.2	Unterschiede zwischen verschiedenen Dickdarmabschnitten	40
3.2.1	Wirkung von Amilorid	41
3.2.2	Wirkung von Amilorid und Azetazolamid	45
3.2.3	Adrenalektomie, Aldosteronsubstitution	49

		Seite
4	DISKUSSION	57
4.1	Diskussion der METHODEN	57
4.1.1	In vivo-/in vitro-Bedingungen	57
4.1.2	Perfusionsanordnung	57
4.1.3	Regelung von Perfusionsrate und Druck	58
4.1.4	Zusammensetzung der luminalen Lösung	60
4.1.5	Messung des Volumentransports	60
4.1.6	Messung der transepithelialen elektrischen Potentialsdifferenz	62
4.1.7	Kontrollgrößen	63
4.2	Diskussion der ERGEBNISSE	65
4.2.1	Perfusionsrate	65
4.2.2	Hydrostatischer Druck, Dehnung	66
4.2.3	Transportraten	69
4.2.4	Transepitheliale Potentialdifferenz	72
4.2.5	Amilorid	75
4.2.6	Amilorid plus Azetazolamid	83
4.2.7	Zeitlicher Verlauf der rectalen pD und Einfluß von Aldosteron	85
4.2.8	Funktioneller Vergleich verschiedener Abschnitte des Dickdarms und des distalen Nephrons	94
5	ANHANG	103
5.1	Berechnung des Volumentransports	103
5.1.1	Änderung des Darmvolumens bei Volumentransport	103
5.1.2	Beeinflussung des Transports durch transportbedingte Druckänderung	104
5.1.3	Auswertung der Perfusionsexperimente mit Variation des hydrostatischen Druckes	105
5.2	Berechnung des Substanztransports	106

		Seite
6	ZUSAMMENFASSUNG	108
7	LITERATURVERZEICHNIS	111
8	LEBENSLAUF	133

1 EINLEITUNG

Epitheliale Transportvorgänge sind von zentraler Bedeutung für die Funktion des Organismus. Epithelien vermitteln und regeln den gesamten Stoffaustausch des Organismus mit seiner Umgebung: Sie sind letztlich die Effektoren, die das Fließgleichgewicht zwischen dem lebenden System und seiner Umgebung einstellen.

Die Epithelphysiologie hat sich in den letzten Jahrzehnten stürmisch entwickelt. Neben technischen Gründen (34, 59, 108) waren dafür auch Erkenntnisse aus der Membranphysiologie maßgeblich. So wie dort die einfacheren Konzepte - etwa das "unit membrane model" (39) - inzwischen durch sehr viel komplexere - wie z.B. das "fluid mosaic model" (152) - ersetzt wurden, sind auch in der Epithelphysiologie die anfänglichen Vorstellungen - z.B. des "Ussing-Modells" (96) -inzwischen wesentlich ergänzt und verfeinert worden: Z.B. durch das Modell des "standing osmotic gradient" (42) und seine Modifikationen (66, 146).

Als Folge der Verfeinerung der Meßtechnik sind inzwischen eine ganze Reihe von interessanten Differenzierungen der epithelialen Transportvorgänge gesichert. Dazu gehören Speziesunterschiede in der Funktion homologer Epithelien ebenso wie jahreszeitliche Variationen (33) und funktionelle Unterschiede zwischen verschiedenen Abschnitten entlang der Längsachse röhrenförmiger Epithelien, z.B. der Niere oder des Darms (neuere Übersichten: Niere: 98, Colon: 49).

Die Ergebnisse der letztgenannten Differenzierungen lassen sich etwa folgendermaßen zusammenfassen (161): Grundsätzlich gilt, daß im proximalen Abschnitt röhrenförmiger Epithelien der größere Teil des Stoff- und Volumentransports stattfindet. Der Transport vieler Substanzen erfolgt dort gegen einen relativ geringen elektrochemischen Gradienten; die Leitfähigkeit für die zu transportierenden Substanzen sowie für elektrischen Strom ist meist eher groß ("leaky epithelia") (67, 146).

Im distal gelegenen Abschnitt findet der kleinere, aber im Sinne einer Feineinstellung regulierbare Teil des Transports statt. Der Transport kann dort gegen einen größeren elektrochemischen Gradienten erfolgen; die Leitfähigkeiten sind kleiner. Im extremen Fall spricht man von "tight epithelia" (67).

Diese in vielen röhrenförmigen Epithelien gefundene Charakteristik legt es nahe, nach Ähnlichkeiten der funktionellen Gliederung solcher Epithelien in unterschiedlichen Organen zu fragen.

Der Dickdarm des Warmblüters hat außer seiner Speicherfunktion vor allem die Aufgabe, den obligaten Verlust von Wasser und Mineralien durch die Faeces auf ein Minimum zu beschränken. Er ist deshalb ein für die Salz- und Wasser-Bilanz des Körpers äußerst wichtiges resorptives Organ. Das Dickdarmepithel, das diese Resorption bewerkstelligt, kann daher - jedenfalls soweit Elektrolyte betroffen sind - als Modell auch für die Transportvorgänge in den Epithelien anderer Organe dienen, die z.T. sehr viel schwieriger experimentell zugänglich sind. Allerdings

ergibt sich dabei das Problem der Übertragbarkeit der an einem Epithel erhobenen Befunde auf andere Epithelien.

Nachdem in der Literatur bereits Hinweise für eine längenabhängige Variation von Transporteigenschaften des Dickdarmepithels publiziert worden waren (44, 180), lag die Frage nahe, ob es sich dabei um rein quantitative lokale Unterschiede handelt, oder ob auch qualitative Unterschiede, d.h. unterschiedliche Transportmechanismen, im Spiel sein konnten. Außerdem war es interessant danach zu fragen, ob und in wieweit eine Analogie hinsichtlich dieser Transportmechanismen zwischen den Epithelien des distalen Nephrons und des Dickdarms, denen beiden die Aufgabe der Feineinstellung der Salz- und Wasserbilanz zufällt, besteht.

Zur funktionellen Charakterisierung der einzelnen Abschnitte des Dickdarms wurden in der vorliegenden Arbeit drei Arten von Versuchsreihen durchgeführt:

- Messung der Netto-Transportraten für Flüssigkeit, Na^+, K^+ und Cl^- sowie der transepithelialen elektrischen Potentialdifferenz (pD) unter Kontrollbedingungen
- Wirkung der Diuretika Amilorid und Azetazolamid
- Einfluß von Adrenalektomie und Aldosteronsubstitution.

Aus den dabei gewonnenen Resultaten ergibt sich eindeutig, daß die Transporteigenschaften des letzten Drittels der Dickdarmlänge der Ratte - hier "Rectum" genannt - von qualitativ anderen Transportmechanismen bestimmt werden, als sie im übrigen Dickdarm

vorhanden sind. Die Befunde zur Wirkung von Aldosteron, Amilorid und Azetazolamid werden im Hinblick auf die derzeit bekannten Wirkungen dieser Substanzen an anderen Epithelien, insbesondere dem Nierentubulus, diskutiert. Bei diesem Vergleich zeigten sich funktionelle Parallelen zwischen den genannten Dickdarmabschnitten und Segmenten des distalen Nephrons.

Soweit in den Experimenten Transportraten gemessen wurden, geschah dies mit einer enteralen Perfusionsanordnung am narkotisierten Tier. Dabei ergab sich die Frage, mit welchen Druck- und Perfusionsraten optimal gearbeitet werden sollte bzw. welchen Einfluß diese physikalischen Bedingungen auf die zu untersuchenden Größen haben. Da die Angaben in der Literatur darüber z.T. widersprüchlich sind, enthält die Arbeit außerdem am Anfang Experimente, in denen durch Variation von Druck und Perfusionsrate der Einfluß dieser Größen untersucht und die günstigsten Perfusionsbedingungen ermittelt wurden.

2 METHODEN

2.1 Tiere, Diät

Als Versuchstiere dienten serum-pathogenfrei (SPF) gelieferte männliche Albino-Wistar-Ratten (Lieferant: Zentralinstitut für Versuchstierzucht, Hannover). Zwischen Lieferungsdatum und Versuch lagen 2-16 Tage. In dieser Zeit hatten die Tiere freien Zugang zu Wasser und zu Standard-Rattenfutter (Altromin Standarddiät 1320, Fa. Altromin, Lage/Lippe). Da diese Versuchstiere anfällig gegen infektiöse Erkrankungen des Respirationstraktes sind, wurden nur nicht hörbar atmende Ratten in den Versuch genommen. Das Körpergewicht (KGW) der Tiere lag zwischen 180 und 300 g.

2.2 Narkose

Als Narkosemittel diente Thiobutabarbital-Natrium (Inactin^{R}, Fa. Byk Gulden, Konstanz), das jeweils vor Versuchsbeginn frisch angesetzt wurde (anfangs 100, später 120 mg in 1 ml 0,9 %iger NaCl-Lösung). Als Dosis wurde 1 $ml \cdot kg^{-1}$ KGW intraperitoneal gegeben. Bei Versuchen mit adrenalektomierten Ratten genügte die halbe Dosis, um die gleiche Narkosetiefe zu erzielen (171).

2.3 Operation

Als erstes wurde die Luftröhre freigelegt, eröffnet und eine Trachealkanüle (Polyaethylenschlauch, Länge ca. 2,5 cm) eingesetzt. Als nächstes wurde die Arteria carotis dargestellt und kanüliert. Der mit 150 $mmol \cdot l^{-1}$ NaCl und 50 000 $E \cdot l^{-1}$ Na-Heparin (Thrombophob^{R}, Fa. Nordmark-Werke, Hamburg) gefüllte Katheter wurde an einen Druckaufnehmer (Typ 4-327-L221, Fa. Bell & Howell, Consolidated Electrodyna-

mics Corp., Pasadena, CA, USA) angeschlossen und so der arterielle Blutdruck fortlaufend auf einem Schreiber registriert.

Um eine kontinuierliche enterale Perfusion durchführen zu können, mußte am proximalen und distalen Ende des zu untersuchenden Darmabschnittes je eine Kanüle eingebunden werden. Hierzu wurde zunächst die Bauchhöhle durch einen medialen ca. 2,5 cm langen Längsschnitt eröffnet. Anschließend wurde der zu untersuchende Darmabschnitt an beiden Enden ca. 5 mm in Längsrichtung aufgeschnitten, die Endstücke eines unten näher beschriebenen Perfusionsschlauchsystems eingebunden und schließlich die jeweils gegenüberliegenden offenen Enden des Darmrohres durch eine Fadenschlinge verschlossen. Bei Versuchen, in denen auch das Rectum perfundiert werden sollte, wurde die distale Kanüle mit einer Tabaksbeutelnaht im Anus fixiert.

Auf zwei Dinge wurde bei der Bauchoperation besonders geachtet: 1. wurde der Darm weitestgehend in situ gelassen und nicht stark angehoben oder gar aus der Bauchhöhle herausluxiert; und 2. wurden die beiden Fadenschlingen so unter dem Darm durchgezogen, daß keine sichtbaren Mesenterialgefäße verletzt oder unterbunden wurden.

2.4 Darmsegmente

In der vorliegenden Arbeit wurden - mit einer Ausnahme - zwei funktionell voneinander isolierte Dickdarmsegmente untersucht. In Vorversuchen hatte sich gezeigt, daß die Grenze zwischen diesen beiden

Segmenten 4-5 cm vom Anus entfernt lag. Dieser Ort ergab sich experimentell dadurch, daß bei noch weiter distal angelegter Grenze das proximale Darmsegment einen zeitlichen Verlauf der pD zu zeigen begann, der für das distale Segment charakteristisch war (s. Abschnitt 3.2). Da eine genaue Segmenteinteilung des Rattendickdarms nach morphologischen Kriterien noch nicht erfolgt zu sein scheint, wurden die nach den oben beschriebenen elektrophysiologischen Kriterien abgegrenzten Segmente im folgenden Text mit den vorläufigen Bezeichnungen "Colon" und "Rectum" versehen.
Da bei Ratten kein Colon transversum abgrenzbar ist, geht das Colon ascendens an der Colonflexur direkt in einen absteigenden und bis zum Anus gerade verlaufenden Dickdarmabschnitt über, so daß bei Ratten ein Colon sigmoideum ebenfalls makroskopisch nicht abgrenzbar ist (46). Der Begriff Rectum war ursprünglich nach Untersuchungen an Vierbeinern geprägt worden und ist dem Wortsinn nach eigentlich auch nur für diese zutreffend (9). Bei Vergleichen mit der menschlichen Anatomie muß beachtet werden, daß das oben definierte Rectum der Ratte etwa ein Drittel der gesamten Dickdarmlänge ausmacht, während der entsprechende Anteil des humanen Rectums nur ein Achtel beträgt (9).

2.5 Adrenalektomie

Für Versuche mit adrenalektomierten Ratten wurden nur junge Tiere (Körpergewicht unter 200 g) benutzt, da ältere Tiere auch nach Adrenalektomie eine ungestörte Wasser- und Elektrolytausscheidung haben können (87, 131). Mindestens 1 Woche vor dem eigentlichen Versuch (129, 130) wurde an den Tieren in

Pentobarbitalnarkose (Nembutal^{R}, Deutsche Abott, Ingelheim, 0,05 g·kg^{-1} i.p.) eine bilaterale Adrenalektomie durch einen einzigen dorsalen Hautschnitt von ca. 1 cm Länge vorgenommen, indem dieser nacheinander zu den Orten über den Nebennieren herumgezogen wurde, wo wiederum ein maximal 1 cm langer Schnitt durch das Bindegewebe den Zugang zu den Nebennieren freilegte. Tiere, bei denen nicht mit absoluter Gewissheit beide Nebennieren vollständig und unversehrt entfernt werden konnten, wurden sofort mittels einer Überdosis des Narkotikums getötet. Die operierten Tiere erhielten noch in Narkose

- 1 ml 0,9 % NaCl
- 20 µg·kg^{-1} KGW Aldosteron (Aldocorten^{R}, Fa. Ciba-Geigy, Wehr/Baden)
- 100 µg·kg^{-1} KGW Dexamethason (Fortecortin^{R}, Fa. E.Merck, Darmstadt)
- 50 000 I.E.·kg^{-1} KGW Penicillin (Penicillin-G-Horm^{R}, 1000 000 I.E., Fa. Hormon-Chemie, München)

intraperitoneal verabreicht. Zwei weitere Dosen Dexamethason wurden 24 und 48 Stunden vor dem Experiment gegeben. Von Dexamethason ist bekannt, daß es bei adrenalektomierten Ratten zwar den Blutdruck und die Wasserpermeabilität nicht aber die Na-Transportrate der Niere normalisiert (70, 156, 170). Der Blutdruck nebennierenloser Tiere (s. Tab.7, Spalten B und C) unterschied sich nicht signifikant von dem normaler Tiere in Langzeitversuchen (Spalte A). Statt Leitungswasser wurde den adrenalektomierten Tieren 0,9 % NaCl ad libitum angeboten.

Der Natrium/Kalium-Quotient im Plasma war bei allen Tieren mit im Mittel 26,3±1,2 gegenüber dem Mittelwert bei Kontrolltieren (33,1±0,62; $P < 0{,}001$)

erniedrigt. Diese Erniedrigung ist ein empfindlicher Indikator für den Erfolg der Adrenalektomie (92).

In Vorversuchen hatte sich gezeigt, daß die Tiere die durchschnittlich 7 Stunden dauernden Experimente überlebten und dabei bis zum Versuchsende einen Blutdruck von > 90 mmHg hatten, wenn die beschriebene schonende Adrenalektomietechnik angewandt, Dexamethason gegeben und ein Wasserbelastungsversuch (70) unterlassen wurde.

Der in den Versuchen mit aktueller Aldosteronsubstitution als Indikator für die Aldosteronwirkung gemessene Anstieg der rectalen pD trat trotz dieser Vorkehrungen allderings nur in 7 von 14 Experimenten auf. Da in den 7 Experimenten ohne pD-Reaktion die übrigen überwachten Parameter keinen Hinweis auf systematische Unterschiede ergaben, muß vermutet werden, daß noch andere als die in diesen Experimenten kontrollierten Parameter eine Vorbedingung für den pD-Anstieg bilden.

2.6 Spülung

Jeweils vor dem Einsetzen des zweiten Perfusionsschlauches wurde der Darm gereinigt. Hierzu wurde der Darm durch den zuerst gelegten Perfusionsschlauch mit etwa 70 ml der auch später im Versuch benutzten auf Körpertemperatur erwärmten Perfusionslösung durchspült. Das Tier wurde hierzu so gelagert, daß möglichst wenig aus dem offenen Ende des Darmes austretende Flüssigkeit in die freie Bauchhöhle gelangen konnte.

Der komplikationslose Verlauf des Versuchs hing unter anderem von der gut durchgeführten Spülung ab. Eine allzu starke und lange Druckeinwirkung führte im weiteren Verlauf des Versuchs zu höherer motorischer Aktivität und zu Volumenschwankungen; bei zu behutsamem Vorgehen traten im Versuch Verstopfungen durch losgelöste Schleimmassen auf. Bei korrekt durchgeführten Spülungen wurden Drucke bis 30 cm H_2O gemessen. Bei behutsamerem Spülen zeigten sich außer der oben erwähnten Verstopfungsneigung keine abweichenden Verhaltensweisen des Darmes, insbesondere waren die Potentialdifferenzen in Colon und Rectum unabhängig vom vorherigen Spüldruck.

Die Spülung wurde retrograd vorgenommen, da hierbei die auftretenden Druckspitzen von kürzerer Zeitdauer waren als bei orthograder Spülung.

2.7 Perfusionsflüssigkeit

Als Perfusionsflüssigkeit diente eine wässrige Lösung folgender Zusammensetzung: (Konzentrationen in $mmol \cdot l^{-1}$) Na^+ 145, K^+ 5, Cl^- 120, HCO_3^- 30. Der pH der Lösung war (nach Äquilibrierung auf einen P_{CO_2} von 40 mmHg) 7,6, die spezifische Volumenleitfähigkeit 16,67 $mS \cdot cm^{-1}$ und das spezifische Gewicht 1006,45 $g \cdot l^{-1}$ (alle Werte bei 37°C). In einigen Versuchen wurde, wenn nicht anders angegeben, der Lösung 10^{-4} $mol \cdot l^{-1}$ Amilorid-HCl, Chargennr. 171 v 007, Fa. Merck, Sharp & Dohme, Rahway, N.Y., USA) Molekulargewicht 266,09 Dalton zugefügt. Diese amiloridhaltige Lösung wurde an jedem Versuchstag frisch angesetzt; das Amilorid war vollständig gelöst.

Die Perfusionslösung wurde vor Versuchsbeginn im Wasserbad auf 37,5° C erwärmt.

2.8 Perfusionsanordnung

Die grundsätzliche Anordnung des Perfusionskreislaufes zeigt Abb.1. Eine stromkonstant arbeitende Rollenocclusionspumpe (Typ MP4, Fa. Ismatec, Zürich, Schweiz; später Pumpe nach Lutz (112), Fa. Stinzing, Würzburg) saugte Perfusionsflüssigkeit aus einem kleinen Vorratsgefäß und trieb sie durch das Darmlumen hindurch in das Vorratsgefäß zurück. Das Schlauchsystem in Strömungsrichtung vor dem Darm bestand aus Polyaethylenschlauch (Typ K 490, Lumen 0,5 mm, Fa. Braun, Melsungen) und Weichplastikschlauch (Typ .040116-0536-09, Lumen 0,4 mm, Fa. Technikon, Chauncey, N.Y., USA). Der vom Darm wegführende und wieder in das Reservoir mündende Schlauch (Polyaethylen, Typ K 492, Lumen 2 mm) bot dem Perfusat einen Strömungswiderstand von ca. 0,1 cm $H_2O \cdot ml^{-1} \cdot min$. Dies bedeutet, daß bei den benutzten Perfusionsraten Druckveränderungen von weniger als 0,2 cm H_2O zu erwarten waren, die daher vernachlässigt wurden.

Das Volumen des gesamten Schlauchsystems betrug 1,1ml.

Der auf das Darmlumen wirkende hydrostatische Druck konnte eingestellt werden, indem die Höhendifferenz zwischen Rattencolon und wirksamer Ausflußhöhe des Schlauches verändert wurde. Diese Anordnung, die in ähnlicher Weise auch von Mirkovitch et al. (118) benutzt wurde, erlaubte es, Druck- und Perfusionsrate praktisch unabhängig voneinander zu regeln.

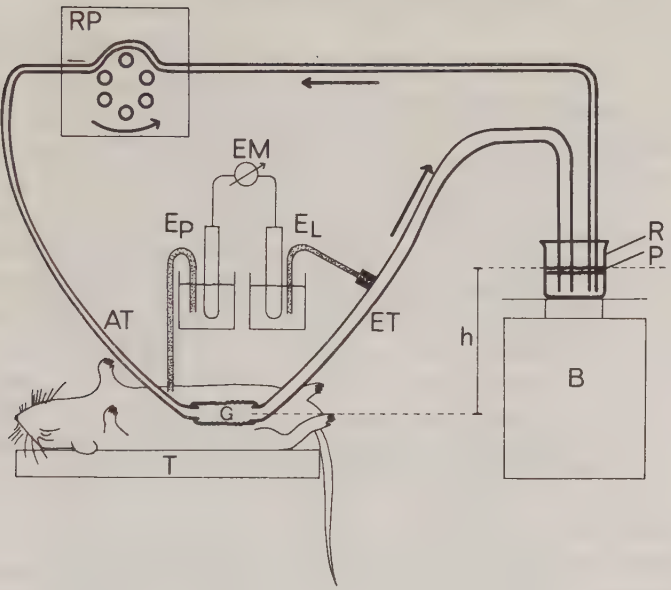


Abb. 1: Versuchsanordnung (Perfusion)
RP: Rollenpumpe; AT: zuführender Schlauch; G: Darmsegment; ET: wegführender weitlumiger Schlauch; R: Reservoir mit Perfusionsflüssigkeit; P: Paraffinöl; B: Waage; T: beheizter, in der Höhe verstellbarer Tisch; h: wirksame hydrostatische Druckdifferenz; E_P und E_L: Kalomelelektroden in 3 $mol \cdot l^{-1}$ KCl, Verbindung zur Bauchhöhle bzw. zum Darmlumen mittels Agar-Brücken; EM: Spannungsmeßgerät

2.9 Messung des Volumentransports

Der Volumentransport wurde gravimetrisch registriert in Anlehnung an ein früher von Haberich et al. beschriebenes Verfahren (80).

Die beiden Enden des zu- und abführenden Schlauches tauchten in das mit Perfusionsflüssigkeit gefüllte Vorratsgefäß ohne dieses zu berühren. Zur Vermeidung von Verdunstung war das Perfusat mit Paraffinöl überschichtet. Das Vorratsgefäß selbst stand auf einer oberschaligen Präzisionswaage. Bei dieser Anordnung führt ein Volumentransport im Darm zu einer gravimetrisch erfaßbaren Änderung der Flüssigkeitsmenge im Vorratsgefäß. Die Voraussetzung hierzu, daß nämlich das Volumen des gesamten Perfusionssystems konstant ist, ist nicht streng erfüllt, da sich das Volumen des Darmes verändern kann. Auf bekannte Volumenänderungen kann jedoch korrigiert werden. (Näheres siehe Abschnitte 4.1.5 und 5).

Um das Meßergebnis kontinuierlich auf einem Schreiber registrieren zu können, wurde ein proportionales elektrisches Signal benötigt. Anfänglich wurde eine Waage ohne elektrischen Ausgang (Typ P 1200, Fa. Mettler-Waagen, Gießen) benutzt. Das elektrische Signal lieferte ein induktiver Wegaufnehmer (Typ 357, Fa. Harvard Apparatus, Millis, MA, USA), dessen Fühler auf die Waagschale aufgelegt wurde. In späteren Versuchen wurde eine Waage mit elektrischem Analogausgang benutzt (Typ Sartomat 3014, Meßgenauigkeit $\pm$ 5 mg (SD), Fa. Sartorius, Göttingen).

2.10 Messung des Elektrolyttransports

Je 1 ml Perfusionsflüssigkeit wurde aus dem vom Darm wegführenden Schlauch als Probe entnommen und sofort

die gleiche Menge frische Perfusionslösung zugesetzt. Hierzu war in einer Entfernung von 3 cm vom Ende des Darmsegments ein 1 cm langes Schlauchstück aus Gummi (Durchmesser außen 6 mm, innen 2 mm) in die Rückleitung eingefügt. Dieser Gummischlauch konnte mit einer feinen Kanüle punktiert werden, ohne daß er undicht wurde.

Die Natrium- und Kaliumkonzentrationen wurden flammenphotometrisch (Typ IL 343, Fa. Instrumentation Laboratory Lexington, MA, USA), die Chloridkonzentration coulometrisch ("Chloridetitrator", Fa. American Instrument Company, Silver Springs, MD, USA, später Typ CMT 10, Fa. Radiometer, Kopenhagen, Dänemark) und die Osmolalität mit der Methode der Gefrierpunktserniedrigung (Halbmikroosmometer, Fa. Knauer, Berlin) bestimmt.

Alle Transportraten wurden auf 1 cm^2 pauschale Epithelfläche bezogen. Bei den Versuchen mit Variation des hydrostatischen Druckes wurden zusätzlich auch auf 1 cm Darmlänge bezogene Werte angegeben. Die Darmlänge wurde am Ende jedes Versuchs in situ gemessen. Die pauschale Epithelfläche wurde aus der Darmlänge und einem Durchmesser von 7 mm errechnet. Dieser Wert für den Durchmesser des Dickdarms von Ratten der angegebenen Gewichte unter Einwirkung von 3 cm H_2O luminalem Druck hatte sich in Vorversuchen sehr einheitlich ergeben und stimmt auch mit von anderen Autoren gemessenen Werten überein (46, 80, 176).

2.11 Messung der transepithelialen Potentialdifferenz

Die in dem jeweiligen funktionell isolierten Darmabschnitt vorhandene transepitheliale elektrische

Potentialdifferenz (pD) wurde zwischen Peritonealflüssigkeitsfilm und Lumenperfusionsflüssigkeit abgegriffen. Als Mittler zwischen ionaler und metallischer Leitung dienten Kalomelelektroden (Typ 03, Fa. Ingold, Frankfurt/M.), die in einen mit 3-molarer KCl-Lösung gefüllten Topf tauchten. Die elektrische Verbindung zwischen diesen Töpfen und dem Meßobjekt wurde durch zweiteilige Heber hergestellt, die folgendermaßen gefüllt waren: Ein etwa 15 cm langer Schlauch (Polyaethylen, K 492, Durchmesser außen 3 mm, innen 2 mm) enthielt ein Gel aus 3-molarem KCl und 20 $g \cdot l^{-1}$ Agar Agar und stellte damit einen relativ guten Leiter dar. Um zu verhindern, daß das hochkonzentrierte KCl in die Peritonealhöhle oder in das Perfusat gelangen konnte, wurde ein bezüglich des Elektrolytgehalts "physiologisches" aber schlechter leitendes Endstück (2 cm Länge, Polyaethylen, K 493, Durchmesser außen 4 mm, innen 3 mm) auf die KCl-Brücke aufgesetzt, das mit einem Gel aus Perfusionslösung und der gleichen Agarkonzentration gefüllt war. Die als differente Elektrode dienende Agarbrücke war durch ein T-Stück unmittelbar am Anfang des abführenden Schlauches mit diesem verbunden. Die als Bezug dienende Brücke war durch einen Spalt des ansonsten durch Klammern verschlossenen Bauchschnittes in den freien Bauchraum, der elektrisch die serosale Epithelseite repräsentiert (71), gesteckt. Als Spannungsmeßgerät diente ein Elektrometerverstärker (Typ 602, Fa. Keithley Instruments, Cleveland, OH, USA), dessen Eingangswiderstand 10^{14} Ohm betrug.

2.12 Kontrollgrößen

Folgende vitalen Funktionen wurden als Kontrollgrößen in allen Versuchen bestimmt:

- mittlerer arterieller Blutdruck*)
- Gewicht der Ratte vor und nach dem Versuch
- Körpertemperatur
- Druck im Perfusionskreislauf unmittelbar vor dem Ende des zuführenden Schlauches (Druckaufnehmer: Typ P 23 Db, Meßbereich: 0-760 mmHg, Fa. Statham, Los Angeles, CA, USA)

In einem Teil (n = 49) der Versuche wurden zusätzlich pH, Hämatokrit, Natrium-, Kalium- und Chloridgehalt im Blut gemessen (Tab.1).

Die Druckmessung im Perfusionskreislauf diente lediglich der Überwachung und Registrierung von eventuell vorkommenden Erhöhungen des Strömungswiderstandes, verursacht durch mangelhafte Spülung oder losgelöste Schleimpartikel. In allen Versuchen, angenommen solchen, die kürzer als 3 h dauerten und in denen auch das Colon Elektrolytlösung angeboten bekam und daher größere Mengen Flüssigkeit resorbieren konnte, wurde dem Versuchstier durch einen zu diesem Zweck in die rechte Vena jugularis eingebundenen Katheter 1 $ml \cdot h^{-1}$ Elektrolyt-Grundlösung**) (Apotheke des Klinikums Steglitz, FU Berlin) infundiert.

---

*) Der Mittelwert über der Zeit wurde durch elektrische Integration des Meßsignals (einfacher RC-Tiefpass, τ = 10 s) erhalten. Zur Beobachtung der Blutdruckamplitude wurde das RC-Glied jeweils kurzzeitig entfernt.

**) Zusammensetzung: (Konzentrationen in $mmol \cdot l^{-1}$) Na^+ 140, K^+ 4, Ca^{++} 2,5, Mg^{++} 1, Cl^- 106, $Lactat^-$ 45.

		Einheit	n	$\bar{x} \pm SD$	$\bar{D}$	P
ZEITINTERVALLE	$t_0 - t_3$ $t_2 - t_3$ $t_0 - t_2$	min	49	415 ± 71 307 ± 63 108 ± 27		
GEWICHT	t_0 t_3	g	49	230,66 ± 33,6 231,57 ± 33,1	+ 0,91	$< 0,2$
ART. BLUTDRUCK	t_2 t_3	mmHg	49	122,7 ± 15 122,2 ± 18	- 0,5	$> 0,7$
$pH_{Vollblut}$	t_1 t_3	$-\log mol \cdot l^{-1}$	49	7,40 ± 0,03 7,42 ± 0,03	+ 0,02	$\leq 0,001$
HÄMATOKRIT	t_1 t_3	1	49	0,478 ± 0,03 0,482 ± 0,03	+ 0,004	$< 0,4$
$[Na^+]_{Plasma}$	t_1 t_3	$mmol \cdot l^{-1}$	46	137,1 ± 7 136,5 ± 9	- 0,56	$> 0,7$
$[K^+]_{Plasma}$	t_1 t_3	$mmol \cdot l^{-1}$	46	4,59 ± 0,9 4,43 ± 1,3	- 0,16	$> 0,5$
$[Cl^-]_{Plasma}$	t_1 t_3	$mmol \cdot l^{-1}$	40	103,6 ± 15 110,2 ± 5	+ 6,6	$\leq 0,025$

Tab. 1: Vitale Parameter

Zeitpunkte: t_0: Narkosebeginn; t_1: erste Blutentnahme ca. 1 h nach t_0; t_2: Registrierbeginn; t_3: zweite Blutentnahme und Ende des Versuchs.

$\bar{D}$: Differenz der zu den angegebenen Zeiten gemessenen Mittelwerte.

Die Veränderung des Körpergewichts diente als grobes Maß für die Ausgeglichenheit der Wasserbilanz. Eine Ungenauigkeit der Messung ergibt sich aus der unterschiedlichen Darmfüllung vor und nach dem Versuch. In 49 Versuchen wurde mit im Mittel +0,91±3,2 (SD) g ($P < 0,2$) keine signifikant von null verschiedene Gewichtsdifferenz beobachtet.

Die Körpertemperatur wurde in der Bauchhöhle elektrisch gemessen (Sekundenthermometer, Fa. Atmos & Fritzsching, Lenzkirch), und durch Höhenverstellung eines von oben einwirkenden Wärmestrahlers (Glühbirne 75 W, mittlere Entfernung ca. 25 cm) auf 37,5° C (79) konstant gehalten. Der Aufrechterhaltung der Temperatur diente außerdem der über einen Wasserbadthermostaten gleichbleibend auf 37° C beheizte Operationstisch.

2.13 Registrierung

Volumentransport, transepitheliale Potentialdifferenz, arterieller Blutdruck, Druck am proximalen Ende des Darmsegmentes und Perfusionsrate wurden anfangs auf einem 12-fach Punktdrucker (Transokomp 288, Fa. Philips Gloeilampenfabrieken, Eindhoven, Niederlande) und später auf einem 6-Kanal-Kompensationsschreiber (Typ 1060, Fa. Linseis, Selb/Bayern) registriert.

2.14 Auswertung

Die Transportraten von Natrium, Kalium, Chlorid und Volumen wurden unter Berücksichtigung geringfügiger Korrekturen, die sich aus der Meßtechnik ergaben (siehe Abschnitt 5), mit Hilfe eines Rechners (PDP 8F, Fa. Digital Equipment, Maynard, MA, USA) ermittelt.

Alle Stichproben wurden einer Prüfung auf Normalverteilung mit dem R/S-Test nach David et al. (38), ((143), Formel 4.16) unterworfen und keine signifikanten Abweichungen davon festgestellt.
Als Streuungsmaß wurde den angegebenen arithmetischen Mittelwerten, je nachdem ob mehr Gewicht auf die Mitteilung der Streuung der Einzelwerte oder der Mittelwerte gelegt werden sollte, $\pm$ SD (jeweils besonders vermerkt) oder $\pm$ SEM (ohne Vermerk) beigefügt. Bei Signifikanzberechnungen wurde zunächst mit Hilfe des F-Tests ((143), Formel 3.19) auf Gleichheit der Varianzen geprüft. Je nach Ausgang des F-Tests wurde für den Vergleich von Mittelwerten die entsprechende Form des t-Tests von "Student" benutzt ((143), entweder Formeln 3.25 bzw. 4.3 oder bei ungleichen Varianzen 3.31 und 3.32). Allen Signifikanzberechnungen wurden zweiseitige Signifikanzschranken zugrundegelegt. Nullhypothesen wurden auf dem 5 %-Niveau abgelehnt.

3 ERGEBNISSE

3.1 Perfusionsbedingungen

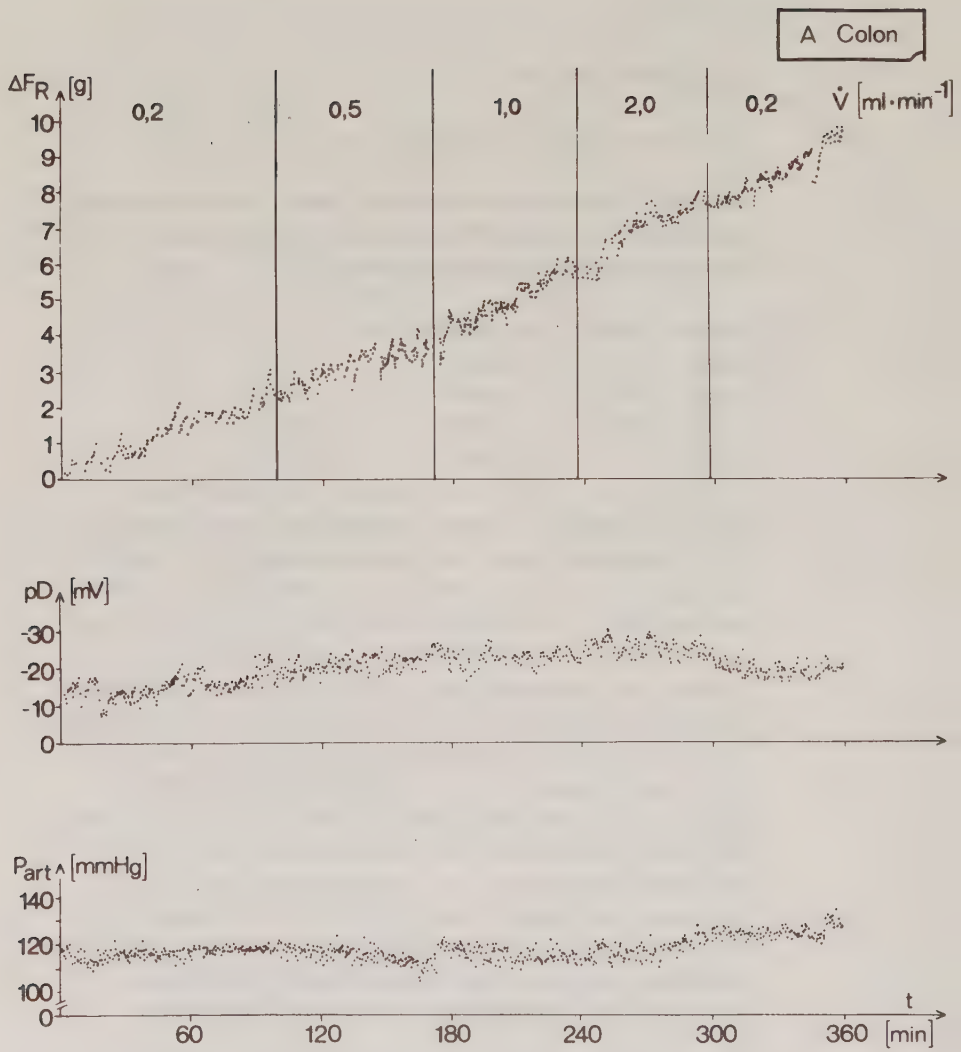
3.1.1 Variation der Perfusionsrate

Bei diesen Versuchen wurde das Colon und das Rectum bei einem Druck von 3 cm H_2O nacheinander mit folgenden fünf Raten perfundiert:

0,235	$ml \cdot min^{-1}$	= 0,611	$cm \cdot min^{-1}$
0,489	"	= 1,273	" "
1,025	"	= 2,663	" "
2,050	"	= 5,327	" "
0,235	"	= 0,611	" "

(Die angegebenen linearen Strömungsgeschwindigkeiten sind berechnet unter der Voraussetzung einer Darmlumenweite von 7 mm (176)). Eine Rückkontrolle wurde durchgeführt, um zwischen Zeit- und Perfusionsratenabhängigkeit einer Veränderung differenzieren zu können. Die durchschnittliche Meßdauer dieser Experimente betrug 383 $\pm$ 52 min (SD). Den typischen Verlauf je eines solchen Versuches an Colon und an Rectum gibt Abb.2 wieder. Die in Tab.2 zusammengefaßten Ergebnisse aller Experimente dieses Typs zeigen, daß in beiden Darmabschnitten keine Abhängigkeit der Volumentransportrate von Veränderungen der Perfusionsrate im Bereich von 0,2-2 $ml \cdot min^{-1}$ meßbar war. Die in jedem Versuch durchgeführte Rückkontrolle läßt außerdem erkennen, daß der Dickdarm über mehrere Stunden sehr gleichmäßig Flüssigkeit resorbiert.

Als im Hinblick auf einen möglichst störungsfreien Versuchsablauf günstigste Perfusionsrate - sie wurde


A Colon
ΔF_R [g]
0,2
0,5
1,0
2,0
0,2
V̇ [ml·min⁻¹]
10
9
8
7
6
5
4
3
2
1
0
pD [mV]
-30
-20
-10
0
P_art [mmHg]
140
120
100
0
t
60
120
180
240
300
360
[min]

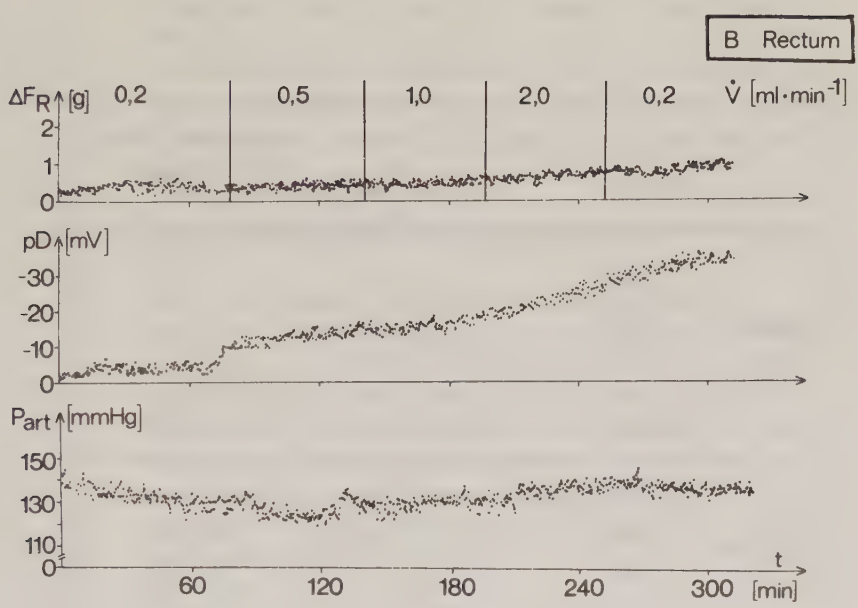


Abb. 2:
Variation der luminalen Perfusionsrate. Zwei Einzelexperimente an Colon (A) und Rectum (B). Abszisse: Zeit (t) ab Registrierbeginn; Ordinaten von oben nach unten: Gewichtsabnahme im Reservoir (ΔF_R)*), transepitheliale Potentialdifferenz (pD, Lumen negativ), mittlerer arterieller Blutdruck (P_{art}).

---

*) Registriert wird bei Volumenresorption eine Gewichtsabnahme des Reservoirs. 1 g Gewichtsabnahme entspricht dabei etwa 1 ml Volumenresorption. Die genaue Beziehung ergibt sich nach Berücksichtigung einiger geringfügiger Korrekturrechnungen (siehe Anhang).

	$\dot{V}_{Pf}$ $ml \cdot min^{-1}$	J_v^n $\mu l \cdot h^{-1} \cdot cm^{-2}$	P gegen J_v^n bei 0,24 $ml \cdot min^{-1}$
COLON n = 8	0,24	74,0 ± 2,6	
	0,49	74,4 ± 3,1	> 0,8
	1,03	76,7 ± 5,0	> 0,6
	2,05	73,4 ± 3,4	> 0,8
	0,24	75,2 ± 3,8	> 0,7
RECTUM n = 6	0,24	23,0 ± 2,8	
	0,49	23,7 ± 3,0	> 0,5
	1,03	23,4 ± 5,0	> 0,9
	2,05	23,7 ± 3,7	> 0,8
	0,24	23,8 ± 4,3	> 0,8

Tab. 2: Netto-Volumentransport J_v^n in Colon und Rectum bei verschiedenen Perfusionsraten $\dot{V}_{Pf}$ und Rückkontrolle. Positives Vorzeichen: Resorption, d.h. Fluß Lumen $\rightarrow$ Blut. Hydrostatischer Druck im Lumen: 3 cm H_2O.

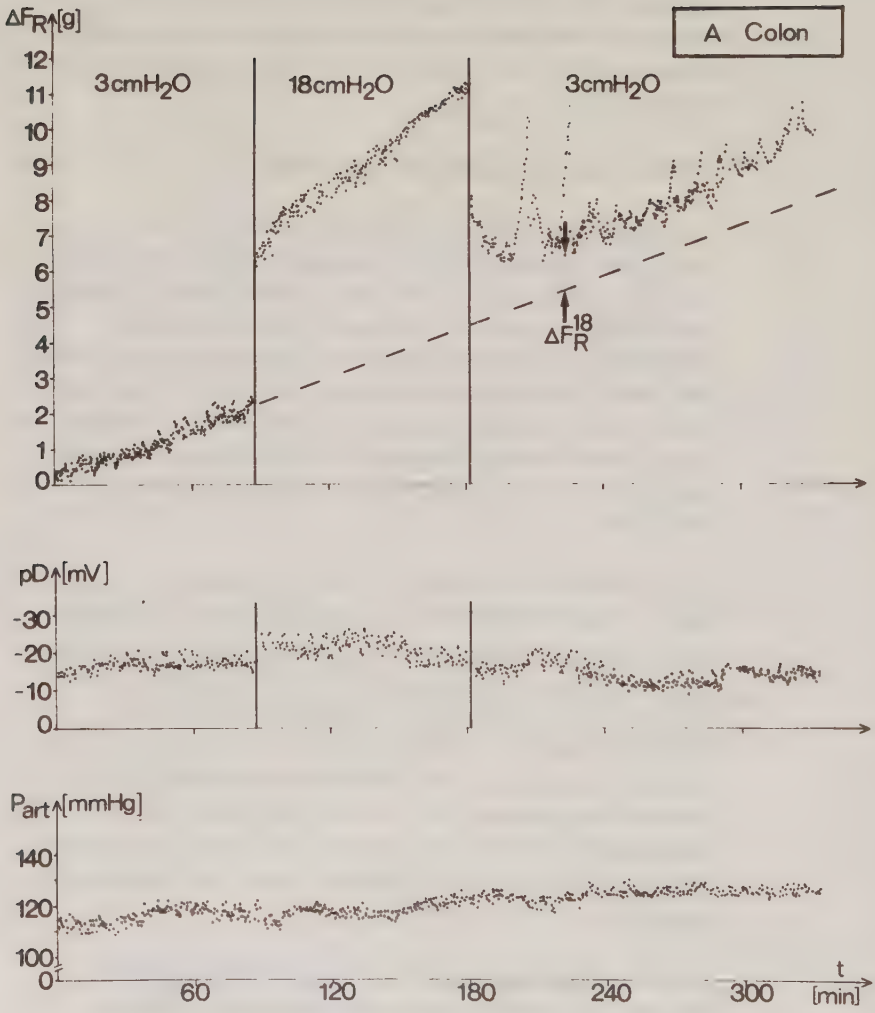
deshalb in allen folgenden Perfusionsexperimenten verwendet - erwies sich 0,5 $ml \cdot min^{-1}$. Sowohl bei höheren als auch bei niedrigeren Raten traten häufiger Komplikationen in Form von Druckschwankungen oder gar vorübergehenden Verstopfungen des Schlauchsystems durch gelegentlich sich loslösende Schleimpartikel auf.

3.1.2 Variation des hydrostatischen Druckes

Als nächstes wurde der Einfluß verschiedener luminaler Drucke auf die Volumentransportraten und die transepithelialen Potentialdifferenzen an Colon und Rectum untersucht. Da nach Perfusionsdruckänderungen die Messung der Volumentransportrate wegen der dabei auftretenden Dehnung des Darmes erst nach einer längeren Einstellzeit auswertbar ist, wurde, um hinreichend genaue Ergebnisse zu erzielen, nur bei zwei verschiedenen Drucken (mit Rückkontrolle) gemessen.

Als niedriger Druck wurde 3 cm H_2O gewählt, da dies der kleinste Druck war, mit dem der Darm in einem definierten Füllungszustand gehalten werden konnte. Mit diesem Druck wurde deshalb in allen anderen Experimenten gearbeitet. Als hoher Druck wurde 18 cm H_2O gewählt, weil dieser Wert noch sicher unter Drucken liegt, die den venösen Blutabstrom beeinträchtigen könnten (19, 111). Abb.3 zeigt je ein Experiment an Colon und Rectum, bei dem jeweils der Ausgangsdruck von 3 cm H_2O auf 18 cm H_2O erhöht und wieder auf 3 cm H_2O gesenkt wurde.

Bei der Interpretation der Volumentransportkurve müssen zwei Effekte auseinandergehalten werden:


ΔF_R [g]
A Colon
3cmH2O
18cmH2O
3cmH2O
ΔF_R^18
pD [mV]
P_art [mmHg]
t
[min]

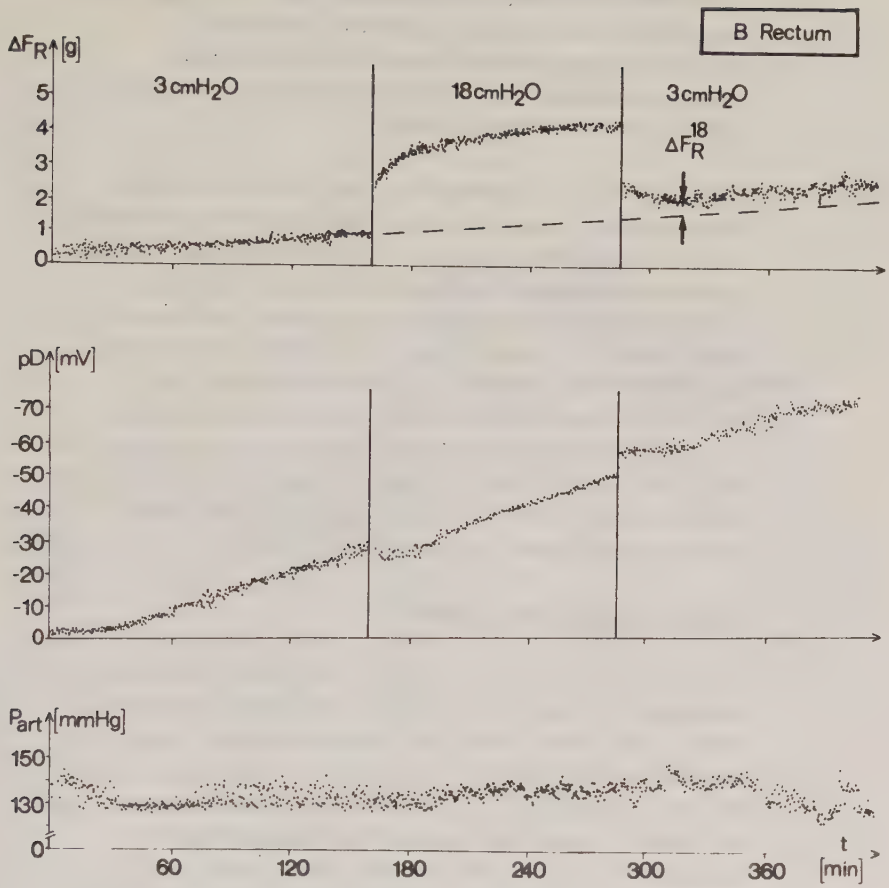


Abb. 3:
Variation des luminalen hydrostatischen Drucks. Zwei Einzelexperimente an Colon (A) und Rectum (B) mit Erhöhung des Drucks von 3 auf 18 cm H_2O und anschließender Rückkontrolle. Abszisse: Zeit (t) ab Registrierbeginn; Ordinaten von oben nach unten: Gewichtsabnahme im Reservoir (ΔF_R)*), transepitheliale Potentialdifferenz (pD), mittlerer arterieller Blutdruck (P_{art}); die Mehrresorption bei 18 cm H_2O wird aus $\Delta F_R 18$ errechnet.

---

*) 1 g Gewichtsabnahme entspricht etwa 1 ml Volumenresorption (genaue Beziehung siehe Anhang)

1. Volumenänderungen im Reservoir auf der Waage durch Resorption von Volumen durch die Darmwand;
2. Volumenänderungen im Reservoir infolge von dehnungsbedingten Volumenänderungen des Darmlumens aufgrund von Druckänderungen.

Da Effekte nach 1 gemessen werden sollten, mußten Effekte nach 2 bekannt sein, damit darauf korrigiert werden konnte. Das Problem lag dabei weniger in den schnellen und großen Volumenverschiebungen bei sprunghafter Druckänderung infolge der aktuellen compliance des Darmes, als in der Möglichkeit sehr langsamer "kriechender" Dehnung des Darmes im Anschluß an den Drucksprung. Die unterschiedliche Steigung der Volumentransportkurve in den Abschnitten bei 3 und bei 18 cm H_2O (Abb.3) könnte demnach sowohl durch Änderung der Transportrate, als auch durch Änderung des Darmvolumens erklärt werden.

3.1.2.1 Nebenversuch Ölinstillation

Um über das Dehnungsverhalten des Darmes Klarheit zu gewinnen, wurden deshalb einige Experimente durchgeführt, bei denen statt der resorbierbaren Elektrolytlösung dünnflüssiges Paraffinöl (DAB, spez. Gewicht 1198,75 $g \cdot l^{-1}$) in den Darm gegeben wurde, in der Vorstellung, daß dieses die Darmwand nicht passieren kann. Da das Öl mit seiner sehr viel größeren Viskosität einer Perfusion einen nicht mehr zu vernachlässigenden Strömungswiderstand entgegengesetzt hätte, wurde auf eine Perfusion verzichtet und statt dessen eine Instillation durchgeführt. Den hierzu veränderten Versuchsaufbau zeigt Abb.4.

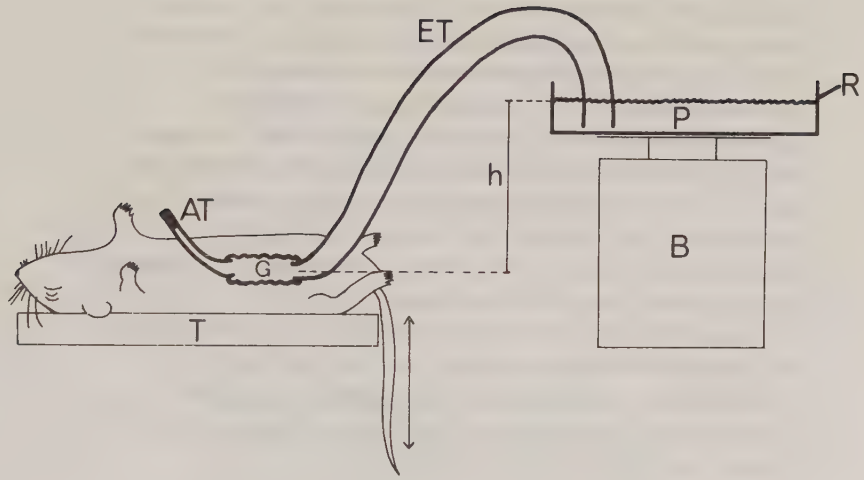


Abb. 4:
Versuchsanordnung (Ölinstillation)
AT: Schlauchstück für Spülung und Füllung des Darmsegments;
G: Darmsegment; ET: weitlumiger Schlauch; R: Reservoir;
P: dünnflüssiges Paraffinöl; B: Waage; T: beheizter, in der Höhe verstellbarer Tisch; h: wirksame Höhe der Ölsäule.

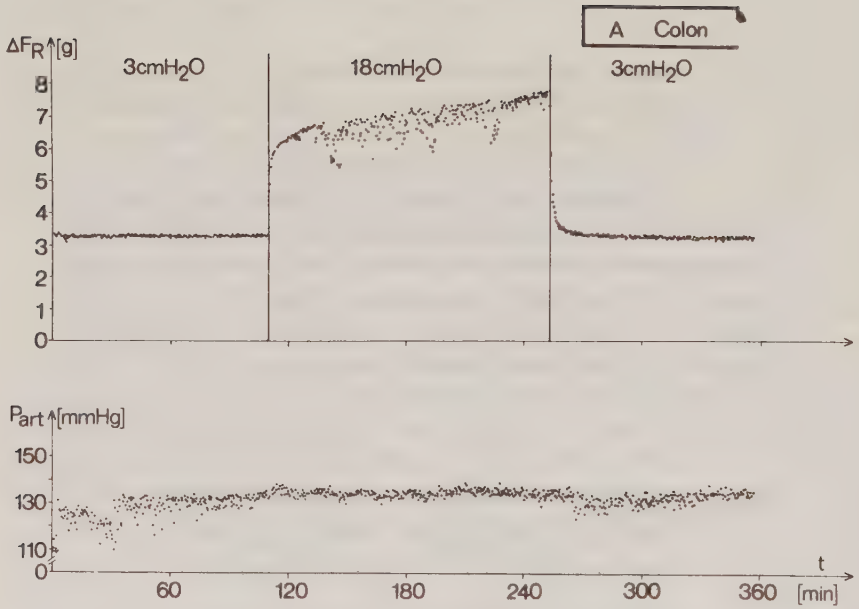
Der Schlauch zwischen Darmsegment und Vorratsgefäß hatte mit einem Innendurchmesser von 9 mm (außen 11 mm, Silikonschlauch) einen mehr als 100-fach geringeren Strömungswiderstand ($R = f(r^4)$) als der gleichlange aber sehr viel dünnere rückführende Schlauch in den Perfusionsexperimenten.

Abb.5 zeigt Originalversuche am Colon und Rectum. Es wurden die gleichen Drucke eingestellt wie in den oben geschilderten Perfusionsexperimenten. Es ist zu sehen, daß bei Druckerhöhung auf die schnelle Volumenzunahme eine langsame folgte. Um grob abschätzen zu können, wann ein Endwert der langsamen Dehnung erreicht wird, wurde in einem Experiment (s. Abb.5 B) die Einwirkungsdauer des hohen Druckes verlängert. Es zeigte sich, daß die langsame Volumenzunahme in diesem Versuch nach etwa 4 Stunden beendet war. Das Ergebnis dieser Versuchsreihe war, daß das Darmvolumen nach Drucksenkung in kurzer Zeit im Rahmen der Meßgenauigkeit auf den Anfangswert zurückkehrte: Tab.3 zeigt die Änderung des Darmvolumens pro cm Darmlänge, nachdem der Druck etwa 1 Stunde lang auf 18 cm H_2O erhöht war.

Erst die Kenntnis dieses Ergebnisses machte die Differenzierung zwischen Volumenänderungen durch Dehnung und durch Transport möglich. Das Ergebnis der nach dem im Anhang beschriebenen Verfahren ausgewerteten gravimetrischen Registrierungen ist in Tab. 4 dargestellt. Der Netto-Volumentransport J_v^n war in Colon und Rectum bei 18 cm H_2O um die Faktoren 1,40 bzw. 1,93 gegenüber den Werten bei 3 cm H_2O vergrößert, wenn J_v^n auf die Darmlänge bezogen wird (Zeile A).

	Δt_{18} min	ΔV $\mu l \cdot cm^{-2}$	P gegen Null
COLON n = 4	122 $\pm$ 24	-0,15 $\pm$ 0,9	> 0,8
RECTUM n = 4	93 $\pm$ 13	-0,67 $\pm$ 3,4	> 0,8

Tab. 3: Nebenversuch Ölinstillation. Darmvolumenänderung Δ V nach vorübergehender Erhöhung des intraluminalen Druckes auf 18 cm H_2O für den Zeitraum Δt_{18}. Anfangs- und Enddruck im Lumen 3 cm H_2O.


A Colon
ΔF_R [g]
3cmH2O
18cmH2O
3cmH2O
8
7
6
5
4
3
2
1
0
P_art [mmHg]
150
130
110
0
60
120
180
240
300
360
t
[min]

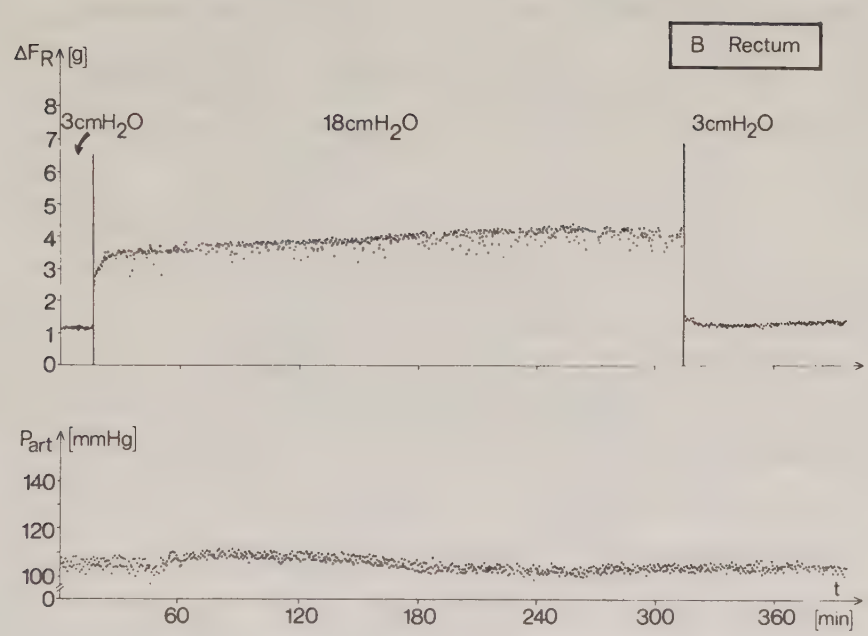


Abb. 5:
Rückkehrgenauigkeit des Darmvolumens nach vorübergehender Dehnung. Zwei Ölinstillationsexperimente an Colon (A) und Rectum (B) mit Erhöhung des luminalen Drucks von 3 auf 18 cm H_2O und anschließender Rückkontrolle. Abszisse: Zeit (t) ab Registrierbeginn; Ordinate: Gewichtsabnahme im Reservoir (ΔF_R)*).

---

*) 1 g Gewichtsänderung entspricht etwa 1,2 ml Volumenänderung (genaue Beziehung siehe Anhang).

		$P_{hydrostat.}$ cm H_2O	COLON n = 5	P	RECTUM n = 6	P
A	J_v^n $\mu l \cdot h^{-1} \cdot cm^{-1}$	3	126 ± 8	$\leq 0,005$	52 ± 5	$\leq 0,005$
		18	186 ± 13	$\leq 0,005$	108 ± 12	$\leq 0,01$
		3	140 ± 13		60 ± 5	
B	J_v^n $\mu l \cdot h^{-1} \cdot cm^{-2}$	3	$57,3 \pm 4$	$< 0,4$	$23,8 \pm 3$	$\leq 0,02$
		18	$60,1 \pm 4$	$< 0,4$	$30,9 \pm 4$	$< 0,4$
		3	$63,8 \pm 6$		$27,4 \pm 3$	
C	VOLUMINA QUOTIENT $\frac{V_{18}}{V_3}$		$2,09 \pm 0,07$		$2,53 \pm 0,15$	
D	FLÄCHEN QUOTIENT $\frac{F_{18}}{F_3}$		$1,45 \pm 0,02$		$1,59 \pm 0,03$	

Tab. 4: A + B Netto-Volumentransport J_v^n in Colon und Rectum bei hydrostatischen Drucken von 3, 18 und wieder 3 cm H_2O. Perfusionsrate 0,5ml·min^{-1}·J_v^n ist auf zwei Weisen dargestellt: Bezogen auf cm Darmlänge und darunter bezogen auf cm^2 pauschale Epithelfläche. Die Unterschiede zwischen den beiden Meßperioden mit 3 cm H_2O sind nirgends signifikant.

C + D Quotienten der Darmvolumina V sowie der pauschalen Epithelflächen F bei 18 cm H_2O und bei 3 cm H_2O. Unterschied zwischen Colon und Rectum $P < 0,001$.

Wenn man J_v^n jedoch auf die pauschale Epithelfläche bezieht (Zeile B), tritt im Colon überhaupt keine und im Rectum eine lediglich bei Druckerhöhung signifikante Änderung um den Faktor 1,21 auf. Diese Diskrepanz läßt sich für beide Darmsegmente erklären: Bei Druckerhöhung nehmen zwar die Darmvolumina (Zeile C) und damit auch die pauschalen Epithelflächen (Zeile D) stark zu, die Darmlängen ändern sich jedoch - wie sich in Vorversuchen gezeigt hatte - nicht meßbar*).

---

*) Die Berechnung der Fläche F bei 18 cm H_2O im Lumen erfolgte unter der Voraussetzung l = 1 cm = konstant, aus dem Mittelwert des Volumens bei 18 cm H_2O mit $F_{18} = 2 \cdot (V_{18} \cdot \pi)^{0,5}$. Die Einzelwerte für J_v^n bei 18 cm H_2O (s. Zeile B) sind unter Verwendung der Volumenänderungen in den jeweiligen Experimenten ermittelt.

3.2 Unterschiede zwischen verschiedenen Dickdarmabschnitten

Abgesehen von den Aussagen über den Einfluß der Perfusionsbedingungen lassen sich die bisher geschilderten sowie die Kontrollwerte einiger weiter unten beschriebener Experimente auf das unterschiedliche Verhalten von Colon und Rectum hin auswerten. Zwischen den untersuchten Darmabschnitten zeigten sich folgende Unterschiede:

1. Die auf die pauschale Darmlänge bezogenen Elektrolyt-und Volumentransportraten des Colons sind annähernd 3 mal größer als die des Rectums (Tab. 2, 4 und 5).
2. Die transepitheliale Potentialdifferenz*) im Colon (Abb.10A) beträgt zeitunabhängig über den ganzen Versuch**) im Mittel -12,3 ± 0,9 mV (n = 33).
3. Im Rectum dagegen stieg die Potentialdifferenz kontinuierlich mehrere Stunden lang an, wie bereits von Edmonds & Marriott (51) für die terminalen Bereiche des Rattendickdarms beschrieben wurde und auch im eigenen Labor bestätigt werden konnte (162).

Im einzelnen sieht der typische Verlauf der Potentialdifferenz folgendermaßen aus: Zu Beginn der pD-Registrierung - das ist 5 bis 10 Minuten nach der Darmspülung -herrschten im Mittel -6,2 ± 1,4 mV (n = 27) über dem Rectumepithel. In der folgenden Stunde fiel die pD in einem Teil der Versuche vorübergehend, erreichte manchmal sogar positive

---

*) Die Polarität der Potentialdifferenzangaben bezieht sich auf die mucosale Seite des Epithels im Vergleich zur serosalen Seite. Negative Zahlen bedeuten, daß das Lumen negativ gegenüber dem Blut ist.

**) Ein Vergleich der Potentialdifferenzen des Colons zu Beginn und am Ende von Kontrollversuchen ergab keinen Unterschied ($P > 0,7$; Tab.7).

Werte, und ging dann in den oben beschriebenen Anstieg über. In einem anderen Teil der Versuche begann die pD sofort anzusteigen ohne vorher abgefallen zu sein. In der dritten bis fünften Stunde nach Narkosebeginn befand sich die pD regelmäßig in einer Phase linearen Anstiegs, so daß für diesen Zeitraum eine mittlere Anstiegsgeschwindigkeit ausgewertet werden konnte:
$\Delta pD/\Delta t = -12,8 \pm 1,1\ mV \cdot h^{-1}$ (n = 27).
In Langzeitversuchen (Abb.10A und Tab.7), die aus Gründen der Vergleichbarkeit mit den Versuchen an adrenalektomierten Tieren als Instillationsexperimente ausgeführt wurden, erreichte die rectale pD nach 6 Stunden ein Maximum von -66,9 ± 7 mV (Spannweite -40 bis -91 mV) und fiel dann langsam wieder ab.

4. In den Druckexperimenten stieg im Colon die pD nach Druckerhöhung an und sank nach Drucksenkung auf den Ausgangswert wieder entsprechend ab ($P < 0,025$). Die Potentialänderung betrug bei Druckerhöhung von 3 auf 18 cm H_2O -6,8 ± 2,9 mV und bei Drucksenkung von 18 auf 3 cm H_2O 6,6 ± 3,9 mV. Das Rectum dagegen reagierte deutlich anders ($P < 0,05$) als das Colon: Die Experimente deuten eine (mit $P < 0,15$ nicht signifikante) Depolarisierung um 3,0 ± 1,4 mV während des erhöhten Druckes an.

3.2.1 Wirkung von Amilorid

Lange et al. (99) und Veit (162) hatten die Wirkung von Amilorid an Segmenten des Rattendickdarms untersucht, die einen Teil des Colon descendens und

das Rectum umfaßten. Dem Instillat zugegebenes Amilorid in der Dosierung $4 \cdot 10^{-3}$ mol·l^{-1} verursachte an diesem Darmabschnitt eine sofortige Potentialumkehr auf +15 mV sowie eine Umkehr der Transportrichtungrichtung von Volumen und Natrium. Obwohl die von Lange et al. verwendete Amiloridkonzentration auch von anderen Autoren verwendet worden ist (45), erschien es notwendig, zunächst nachzuprüfen, ob der von Lange et al. beobachtete Effekt pharmakon-spezifisch ist oder ob wegen der sehr hohen Konzentration im Vergleich zu wirksamen Dosen z.B. an der Niere (z.B. 15 % Hemmung von J_v^n bei 10^{-6}mol·l^{-1} (116)) nicht eine unspezifische Veränderung der Epitheleigenschaften vorgelegen hat. Außerdem waren bei den von Lange et al. benutzten Amiloridchargen zum Teil Schwierigkeiten mit der Löslichkeit der Substanz aufgetreten. Daher wurde zunächst mit der beschriebenen Perfusionstechnik die Wirkung verschiedener Amiloridkonzentrationen am Rectum untersucht.

Es stellte sich heraus, daß im Hinblick auf die Meßgenauigkeit der empfindlichste Indikator für die Einwirkung des Amilorids am Rectum der Ratte die Potentialdifferenz ist. Abb.6 zeigt einen Versuch, in dem dem Perfusat Amilorid in steigenden Konzentrationen von 10^{-8} bis 10^{-2}mol·l^{-1} zugesetzt wurde. Die Substanz löste sich bei allen Konzentrationen außer der letzten (10^{-2}) vollständig. Die Dosiswirkungsbeziehung (Abb.7) zeigt einen sigmoiden Verlauf und weist darauf hin, daß die von Lange et al. benutzte Konzentration im pharmakologischen Wirkungsbereich liegt. Die Dosis der halbmaximalen Wirkung auf die rectale pD liegt bei etwa $7 \cdot 10^{-6}$mol·l^{-1}. Weiterhin ist zu ersehen, daß die in den folgenden Versuchen benutzte Dosis von 10^{-4}mol·l^{-1} ausreicht, um einen Effekt in der Nähe des Maximums zu erzielen.

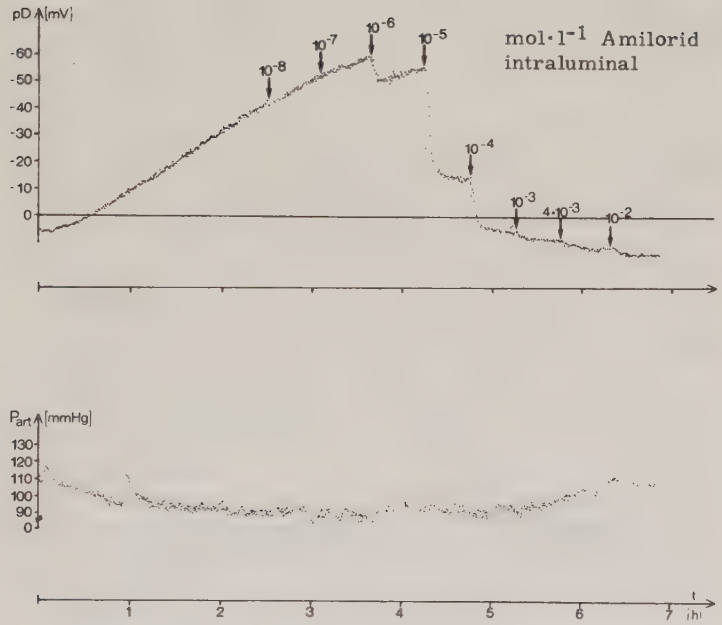


Abb. 6:
Wirkung von steigenden Amiloriddosen auf die rectale pD. Einzelversuch. Abszisse: Zeit (t) ab Registrierbeginn; Ordinaten: transepitheliale Potentialdifferenz (pD), mittlerer arterieller Blutdruck (P_{art}).

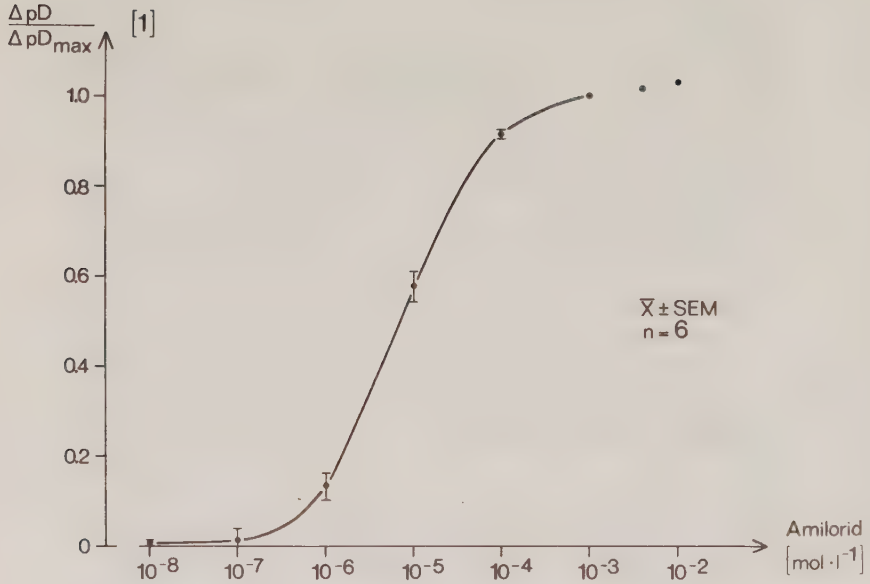


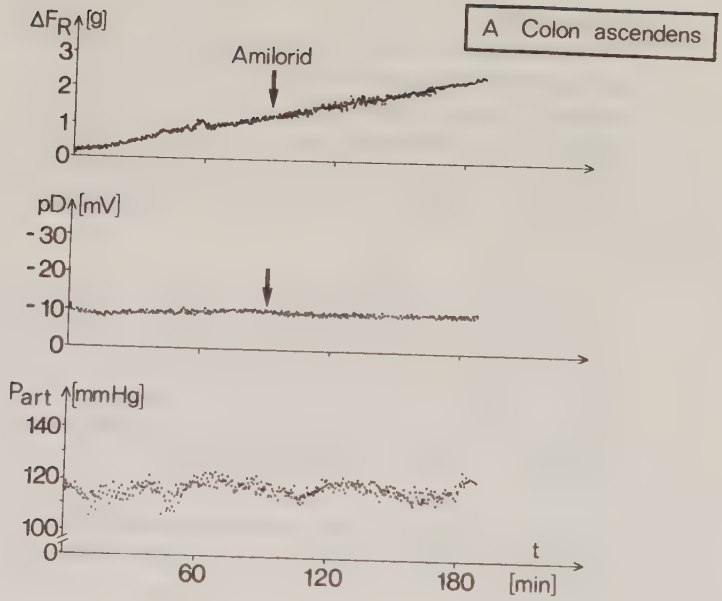
Abb. 7:
Dosis-Wirkungsbeziehung zwischen Amilorid und rectaler Potentialdifferenz. Abszisse: Amiloridkonzentration des Perfusats. Ordinate: Relativer Potentialabfall jeweils 10 min nach intraluminaler Amiloridgabe; 0 entspricht der maximalen negativen pD (-72,6 $\pm$ 4 mV) unmittelbar vor der ersten Amiloridgabe; 1 entspricht der pD nach 10^{-3}mol·l^{-1} Amilorid (+15,9 $\pm$ 1,3 mV); in einem Experiment wurde die Dosis über 10^{-3} hinaus auf $4 \cdot 10^{-3}$ und 10^{-2}mol·l^{-1} gesteigert, für den relativen pD-Abfall ergeben sich dadurch Werte >1; die Verbindungslinie wurde nach Augenmaß eingezeichnet.

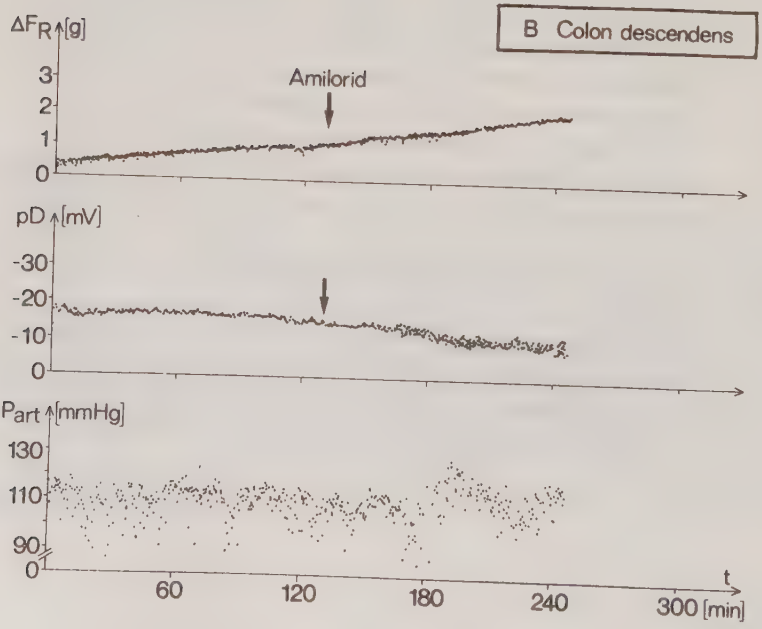
Es lag nahe zu untersuchen, ob auch bezüglich der Amiloridwirkung Unterschiede zwischen den Dickdarmabschnitten bestehen. Da Lange et al. das Colon ascendens nicht untersucht hatten, wurden in einer weiteren Versuchsreihe neben dem Rectum das Colon ascendens und das Colon descendens getrennt untersucht. Je einen Originalversuch an den 3 Darmabschnitten zeigt Abb.8.

Am auffälligsten war der Effekt von Amilorid auf den Verlauf der Potentialdifferenz: Über der rectalen Mucosa fiel die pD nach Amiloridzugabe - wie bei Veit (162) an dem von ihm untersuchten Darmabschnitt - steil ab und kehrte sich um. Im Gegensatz dazu änderte sich die elektrische Spannung bei Amiloridzugabe weder im Colon ascendens noch im Colon descendens. Die Na^+- und Volumentransportraten (Tab.5) waren ebenfalls nur im Rectum verringert, während sie in den beiden Colonabschnitten unverändert blieben.
Die K^+-Sekretionsrate blieb im Colon ascendens unter Amilorid gleich, sank jedoch im Colon descendens geringfügig ab (Änderung gerade noch signifikant). Im Rectum ließ sich bei nicht signifikant von null verschiedenen anfänglichen Resorptionsraten für K^+ eine Umkehr der Transportrichtung dieses Ions nach Amilorideinwirkung statistisch nicht sichern. Auf die Cl^--Resorptionsraten hatte Amilorid keinen Einfluß.

3.2.2 Wirkung von Amilorid und Azetazolamid

Um zu klären, ob 1. die nach 10^{-4} molarer Amiloridgabe verbleibende positive rectale pD auf einen elektrogenen HCO_3^-- bzw. H^+-Transport oder einen Cl^--Transport zurückzuführen ist und ob 2. bei


A Colon ascendens
ΔF_R [g]
3
2
1
0
Amilorid
pD [mV]
-30
-20
-10
0
P_art [mmHg]
140
120
100
0
60
120
180
t
[min]


B Colon descendens
ΔF_R [g]
3
2
1
0
Amilorid
pD [mV]
-30
-20
-10
0
P_art [mmHg]
130
110
90
0
60
120
180
240
300 [min]
t

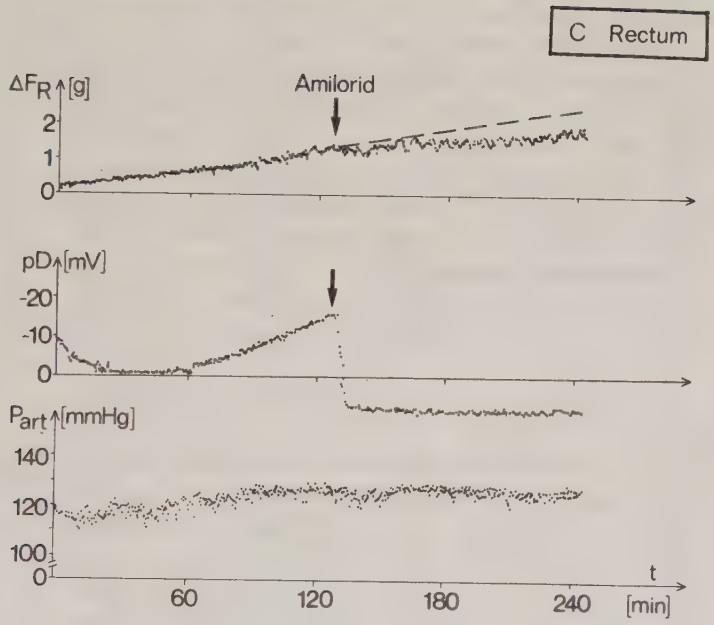


Abb. 8:
Wirkung von 10^{-4} mol·l^{-1} Amilorid intraluminal auf Volumentransport und pD von Colon ascendens (A), Colon descendens (B) und Rectum (C) je einer Ratte. Abszisse: Zeit (t) ab Registrierbeginn; Ordinaten von oben nach unten: Gewichtsabnahme im Reservoir (ΔF_R)*), transepitheliale Potentialdifferenz (pD); mittlerer arterieller Blutdruck (P_{art}).

---

*) 1 g Gewichtsabnahme entspricht etwa 1 ml Volumenresorption (genaue Beziehung siehe Anhang)

J^n	COLON ASCENDENS n = 8 Kontrolle	Amilorid	P	COLON DESCENDENS n = 7 Kontrolle	Amilorid	P	RECTUM n = 8 Kontrolle	Amilorid	P
J^n_v $\mu l \cdot h^{-1} \cdot cm^{-2}$	86,4 ± 8,5	85,0 ± 7,8	>0,6	75,5 ± 7,8	76,8 ± 6,6	>0,7	30,5 ± 7,9	14,9 ± 4,3	<0,025
J^n_{Na} $\mu mol \cdot h^{-1} \cdot cm^{-2}$	18,4 ± 2,7	15,9 ± 1,0	>0,5	15,8 ± 1,5	14,2 ± 1,0	>0,5	4,6 ± 1,1	1,9 ± 0,6	<0,025
J^n_K $\mu mol \cdot h^{-1} \cdot cm^{-2}$	- 0,71 ± 0,2	- 0,55 ± 0,2	>0,7	- 1,16 ± 0,3	- 0,70 ± 0,2	<0,05	- 0,12*) ± 0,2	+ 0,22*) ± 0,2	<0,1
J^n_{Cl} $\mu mol \cdot h^{-1} \cdot cm^{-2}$	16,7 ± 2,6	15,2 ± 1,3	>0,6	19,0 ± 3,0	14,1 ± 1,5	<0,2	7,0 ± 0,8	7,0 ± 0,9	>0,9
pD	-10,5	-10,5	>0,9	-11,4	-10,8	>0,7	-39,6**)	+ 6,9	<0,005
mV	± 3,3	± 2,2		± 2,4	± 1,5		± 12,4	± 2,3	

Tab. 5: Wirkung von 10^{-4} mol·l^{-1} Amilorid intraluminal auf den transepithelialen Netto-Transport und die pD. Positive Werte bedeuten Resorption aus dem Lumen. Die angegebenen Wahrscheinlichkeiten beziehen sich auf die Unterschiede zwischen Kontrolle und Amilorid. Ein Vergleich der Kontrollwerte der drei Darmabschnitte ergab keine signifikanten Unterschiede zwischen C.asc. und C.desc., jedoch signifikante Unterschiede ($P < 0,01$ und besser) bei allen Werten zwischen C.desc. und Rectum. *): Wert nicht signifikant von null verschieden. **): Letzter Wert vor Amiloridzugabe; die pD war zu diesem Zeitpunkt noch im Anstieg begriffen.

ähnlichem Versuchsprotokoll die pD des Rectums vergleichbar reagiert wie die pD des corticalen Sammelrohrs (157), wurde in gesonderten Instillationsversuchen in Colon und Rectum desselben Tieres zugleich erst 10^{-4}mol·l^{-1} Amilorid intraluminal gegeben und anschließend $2 \cdot 10^{-4}$mol·kg^{-1} KGW Azetazolamid (Diamox^{R} Trockensubstanz, Fa. Cyanamid (Lederle), München) intraarteriell injiziert (Abb.9). Die Potentialdifferenz des Colons blieb durch Azetazolamid unbeeinflußt (Tab.6), während das rectale Epithel nach der Injektion eine Depolarisation um 3,5±0,9 mV zeigte.

3.2.3 Adrenalektomie, Aldosteronsubstitution

Edmonds erklärt den Anstieg der Potentialdifferenz im Dickdarm mit einer erhöhten Aldosteronausschüttung während der Narkose (51). Da dieser Anstieg der pD in den vorliegenden Experimenten nur im Rectum auftrat, lag die Frage nahe, ob Aldosteron in physiologischer Dosierung ausschließlich auf die pD im Rectum wirkt. Hierzu wurde zunächst an adrenalektomierten Ratten in Instillationsversuchen die Potentialdifferenz in Colon und Rectum zugleich gemessen (Abb.10B). Es zeigte sich zunächst, daß die Versuche in ihrer zeitlichen Länge dadurch begrenzt waren, daß die Ratten nur 251±67 (SD) min in Narkose am Leben zu erhalten waren. Der arterielle Blutdruck fiel dabei bis ca. 10 min vor dem Tod des Tieres von anfangs 112 mmHg langsam lediglich auf 107 mmHg (s. Tab.7, Spalte B). Danach trat der Tod des Tieres mit einem akuten Blutdruckabfall sehr abrupt ein.

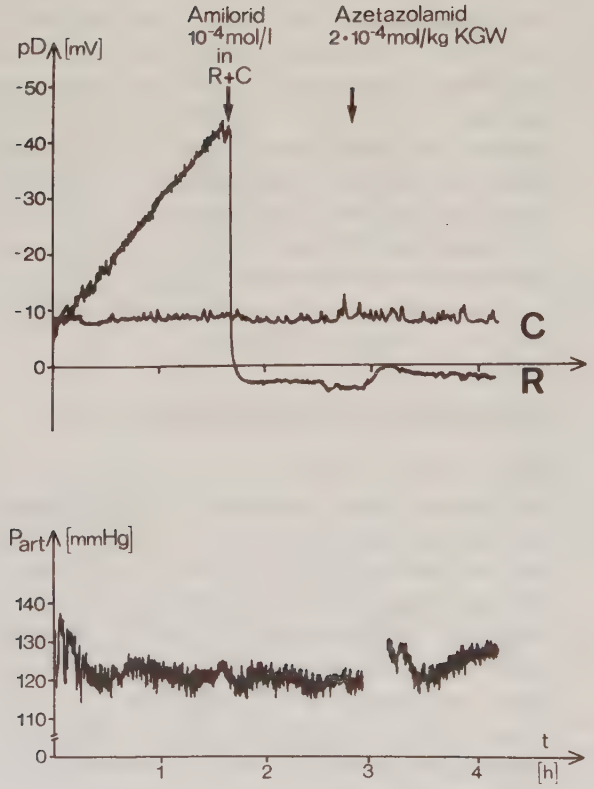


Abb. 9:
Wirkung von 10^{-4}mol·l^{-1} Amilorid intraluminal und zusätzlich $2 \cdot 10^{-4}$mol·kg^{-1} KGW Azetazolamid intraarteriell auf die pD von Colon und Rectum einer Ratte. Abszisse: Zeit (t) ab Registrierbeginn; Ordinaten: transepitheliale Potentialdifferenz (pD), mittlerer arterieller Blutdruck (P_{art}).

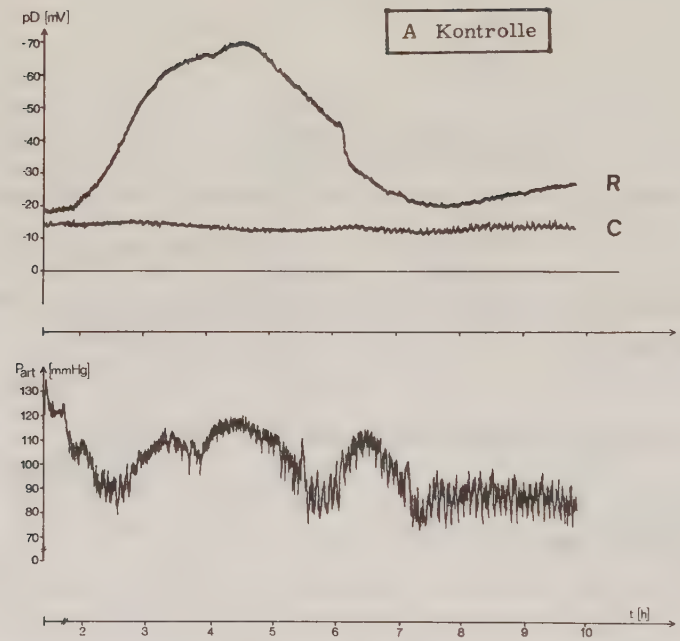
		pD_{COLON} mV	P	pD_{RECTUM} mV	P
A	KONTROLLE	$-8,8 \pm 0,6$		$-33,5 \pm 3,2$ *)	
			$<0,4$		$\underline{<0,001}$
B	AMILORID	$-8,3 \pm 0,8$		$+6,3 \pm 1,0$	
			$<0,5$		$\underline{<0,001}$
C	AMILORID + AZETAZOLAMID	$-8,2 \pm 0,8$		$+2,8 \pm 0,9$	

Tab. 6: Gleichzeitige Einwirkung von Amilorid im Lumen und Azetazolamid im Blut; simultane Messung in Colon und Rectum derselben Tiere (Instillationsexperimente, n=14).

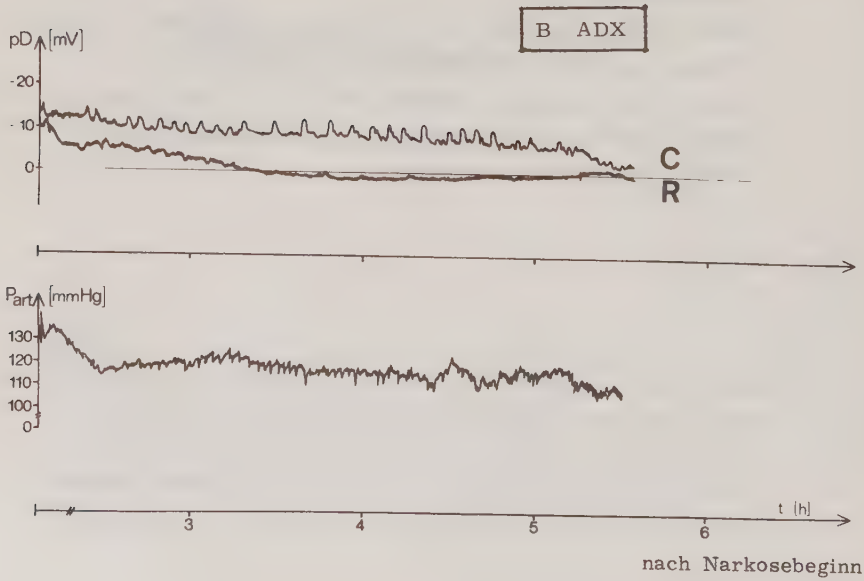
Zeile A, *): Letzter Wert vor Amiloridzugabe; die pD war zu diesem Zeitpunkt noch im Anstieg begriffen.

Zeile B: pD 10 min nach luminaler Gabe von 10^{-4} mol·l^{-1} Amilorid.

Zeile C: pD 10 min nach zusätzlicher intraarterieller Gabe von $2 \cdot 10^{-4}$ mol·kg^{-1} KGW Azetazolamid.



nach Narkosebeginn



nach Narkosebeginn

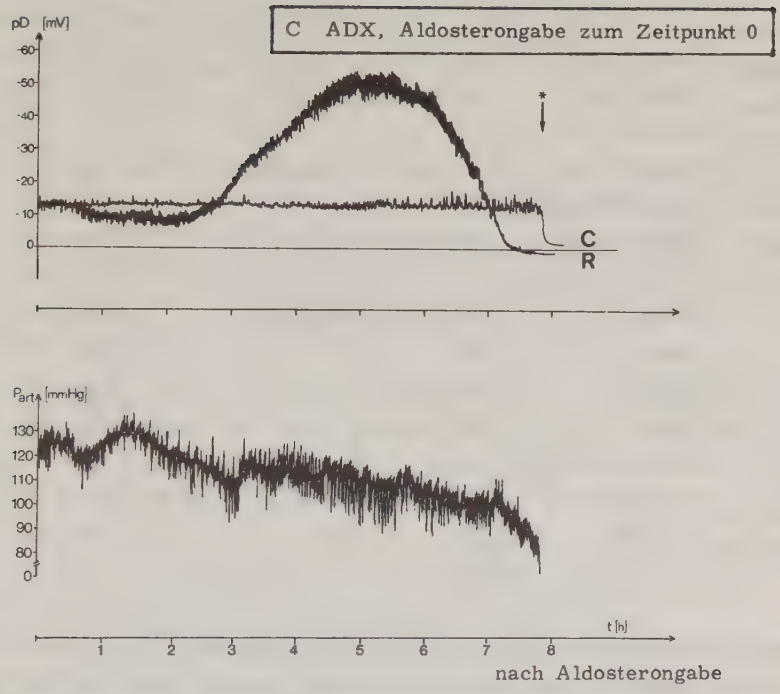


Abb. 10:
Verlauf der pD bei Normaltieren (A), adrenalektomierten Tieren (B) und adrenalektomierten akut aldosteronsubstituierten Tieren (C). Drei Einzelexperimente mit gleichzeitiger pD-Messung in Colon und Rectum. Aldosteronsubstitution (40 $\mu g \cdot kg^{-1}$ KGW) zu Registrierbeginn. Abszisse: Zeit (t) ab Narkosebeginn, in C ab Aldosterongabe (beachte abweichenden Maßstab in B); Ordinate: transepitheliale Potentialdifferenz (pD), mittlerer arterieller Blutdruck (P_{art}). *): Tod des Versuchstieres.

		A	B		C	
		KONTROLLE	ADX		ADX + ALDOSTERON	
		n = 6	n = 6	P	n = 7	P
pD_{Start}	COLON (mV)	-12,7 ± 0,7	-10,7 ± 0,5	< 0,1	-11,7 ± 0,9	< 0,4
pD_{Ende}	COLON (mV)	-12,9 ± 0,9	- 8,0 ± 1,1	< 0,01	-11,0 ± 1,0	< 0,3
pD_{Start}	RECTUM (mV)	- 7,1 ± 3,7	- 3,6 ± 0,8	< 0,5	- 6,9 ± 3,3	> 0,95
$\Delta pD/\Delta t$	RECTUM ($mV \cdot h^{-1}$)	-16 ± 3	-		-18 ± 3	> 0,6
pD_{Max}	RECTUM (mV)	-66,9 ± 16,8	-		-51,5 ± 6,7	< 0,5
Δt_0	(min)	761 ± 118	251 ± 27		489 ± 43	
Δt_1	(min)	138 ± 8	-		136 ± 11	> 0,8
Δt_2	(min)	229 ± 36	-		147 ± 16	< 0,1
Δt_3	(min)	296 ± 39	-		191 ± 35	< 0,1
$P_{art\ Start}$	(mm Hg)	116 ± 4	112 ± 2	< 0,4	118 ± 3	> 0,7
$P_{art\ Ende}$	(mm Hg)	100 ± 4	107 ± 2	< 0,2	101 ± 7	> 0,9

Tab. 7: Potentialdifferenz in Colon und Rectum von unbehandelten (A), adrenalektomierten (B) und adrenalektomierten aldosteronsubstituierten Tieren (40 $\mu g \cdot kg^{-1}$ KGW bei Registrierbeginn) (C). Die Signifikanzangaben beziehen sich auf den Vergleich mit den Kontrollversuchen (Spalte A). Am Colon ist der Unterschied zwischen pD_{Start} und pD_{Ende} in keinem Kollektiv signifikant ($P > 0,7$; $< 0,1$ und $> 0,5$).

Δt_0: Gesamtdauer der Versuche ab Narkosebeginn

Die folgenden Zeitintervalle beziehen sich auf den pD-Verlauf am Rectum:

Δt_1 bei A: Narkosebeginn bis Beginn des Potentialanstiegs.

Δt_1 bei C: Aldosteron bis Beginn des Potentialanstiegs.

Δt_2 : Beginn des Potentialanstiegs bis Potentialmaximum

Δt_3 : Zeitraum, in dem $pD \geqslant 1/2\ pD_{Max}$.

Der Verlust der Nebennieren führte zu völlig unterschiedlichen Reaktionen in Colon und Rectum (Tab.7, Spalte B): Die pD des Colons veränderte sich im Laufe der Registrierung nicht signifikant; die Anfangswerte unterschieden sich auch nicht von denen normaler Tiere (Spalte A)*).

Der bei Normaltieren auftretende rectale Potentialanstieg blieb bei Nebennierenlosigkeit völlig aus (vgl. Abb.10A und B); stattdessen sank die Potentialdifferenz anfangs kontinuierlich ab und war nach 1 h nicht mehr signifikant von null verschieden. Sie trat im Laufe des Experiments nicht erneut auf.

Um vollends zu sichern, daß nicht der Verlust der Nebennieren an sich, sondern der dadurch verursachte Aldosteronmangel die beobachtete Veränderung hervorruft, wurde den adrenalektomierten Tieren bei

---

*) Der signifikante Unterschied der pD-Endwerte zwischen normalen und adrenalektomierten (ADX) Tieren ($P < 0{,}01$) läßt sich folgendermaßen interpretieren: Die mittlere pD war bei den ADX Tieren bis zum Ende des Versuchs etwas gefallen. Der Mittelwert war bei den normalen Tieren geringfügig gestiegen. Zusätzlich war die Anfangs-pD der normalen Tiere um 2 mV höher als die der ADX Tiere. Aus diesen drei tendenziellen und jeweils einzeln nicht signifikanten Unterschieden ergab sich insgesamt ein signifikanter Unterschied der pD-Endwerte zwischen normalen und ADX Tieren. Zusammengenommen muß man daraus schließen, daß die pD des Colons durch Adrenalektomie nicht wesentlich beeinflußt wird.

Registrierbeginn eine einmalige Dosis von 40 $\mu g \cdot kg^{-1}$ KGW Aldosteron i.a. infundiert. Im Vergleich zum unsubstituierten Zustand erlaubte diese Substitution eine deutlich verlängerte Versuchsdauer (s. Tab.7, Δt_o, Spalten B und C; $P < 0{,}001$). Das Colon (Tab.7, Spalte C) zeigte auch hier keine Veränderung der pD, während gleichzeitig im Rectum der gleiche Potentialanstieg wie bei Normaltieren zu beobachten war. Dieser Anstieg begann ca. 2 h (Spalte C, Zeitintervall Δt_1) nach Aldosterongabe, eine Verzögerung, die nicht nur dem Zeitraum zwischen Narkosebeginn und Potentialanstieg bei Normaltieren (Spalte A, Zeitintervall Δt_1) auffallend ähnelte, sondern die auch mit der an anderen Epithelien beobachteten Zeitverzögerung des Wirkungseintritts nach Aldosterongabe vergleichbar ist (71, 72, 77).

Ebenfalls fast identisch bei Normaltieren und substituierten nebennierenlosen Tieren waren die mittleren Anstiegsgeschwindigkeiten der pD ($\Delta pD/\Delta t$) im Zeitraum Δt_2 in den beiden Kollektiven A und C. Zwischen der Dauer des pD-Anstiegs (Δt_2), dem Zeitraum, in dem die pD mindestens halbmaximal war (Δt_3), und folglich dem maximalen Potential (pD_{Max}) trat - obwohl die Mittelwerte des Kollektivs C kleiner waren als die von A - bei gegebener Stichprobenzahl noch kein signifikanter Unterschied auf.

Da sich demnach weder die Anstiegsgeschwindigkeit noch das Maximum der Potentialdifferenzen zwischen beiden Kollektiven signifikant unterschieden, läßt sich zusammenfassend sagen, daß eine einzelne Aldosterondosis die durch Adrenalektomie hervorgerufene Störung des "normalen" rectalen Potentialverlaufs wiederherstellen konnte.

4 DISKUSSION

4.1 Diskussion der Methoden

4.1.1 In vivo-/ in vitro-Bedingungen

Die Experimente wurden in vivo vorgenommen, obwohl es eigentlich nur in vitro möglich ist, alle die Messung beeinflussenden Parameter unter Kontrolle zu halten und damit genaue Aussagen über die zugrundeliegenden Transportmechanismen zu machen. Die Gründe dafür, trotzdem eine in vivo-Anordnung zu benutzen, waren: 1. Es ist in vivo leicht möglich, Versuche viele Stunden lang durchzuführen. Die Ursache, warum bisher im Gegensatz zu Kaltblüterepithelien (149) noch keine Aldosteronwirkung am Warmblüterdarm (52) in vitro veröffentlicht werden konnte, ist wahrscheinlich in der mangelnden zeitlichen Stabilität bei in vitro-Präparaten zu suchen (149). 2. Komplexe Reaktionen des Organismus nervaler und humoraler Art, wie z.B. der beobachtete Potentialanstieg im Rectum, treten nur am weitgehend intakten System - also in vivo - auf.

4.1.2 Perfusionsanordnung

Es sind grundsätzlich drei Methoden denkbar, eine Perfusionslösung dem Epithel in vivo anzubieten: 1. Instillation, 2. kreisende (=geschlossene) und 3. einmalige (=offene) Perfusion.
Diese Methoden unterscheiden sich u.a. sehr wesentlich durch die Flüssigkeitsmenge, mit der das Epithel in Kontakt kommt. Die Methoden 1 und 3 stellen in dieser Beziehung Extreme dar, was sie für Transport-

messungen ungeeignet erscheinen läßt: Bei 1 treten starke (aber gut meßbare) Konzentrations- und Volumenänderungen im Laufe eines Versuchs auf, so daß sich die von ihren eigenen und den Gradienten anderer Substanzen abhängige Transportrate eines zu messenden Stoffes mit der Zeit in unübersichtlicher Weise ändert (35, 164). (Für die Bestimmung von Gleichgewichtslösungen ist demnach 1 die Methode der Wahl).

Bei 3 (offene Perfusion) erfährt die (vorteilhafterweise konstante) Angebotskonzentration während ihrer einmaligen Passage durch den Darm bei der benutzten Perfusionsrate eine für quantitative Bestimmungen zu kleine Änderung*). Ein weiterer Nachteil der Methode 3 ist die Gefahr der Temperaturalteration der Ratte bei unpräziser Vorwärmung der Lösung.

Als methodischer Kompromiß und damit als Versuchsanordnung der Wahl bietet sich daher für Transportmessungen Methode 2 (geschlossene Perfusion) an; als Gesamtvolumen des Perfusats wurden je nach Darmabschnitt 9-15 ml gewählt. Hierbei sind die Konzentrationsänderungen nur mittelgroß, aber schon gut meßbar und das Darmvolumen bleibt konstant.

4.1.3 Regelung von Perfusionsrate und Druck

Leicht veränderbare Größen einer zirkulierenden Perfusion sind Stromstärke und Druck. Diese beiden stehen über das Ohm'sche Gesetz mit dem Strömungswiderstand in Beziehung, so daß die isolierte Änderung nur eines Parameters theoretisch nicht

---

*) Beispiel: (Na^+)Perfusat: 145 mmol·l^{-1}, Perfusionsrate: 0,5 ml·min^{-1}, J^n_{Na} (Rectum, nach Amilorid): 1,9 µmol·h^{-1}·cm^{-2}, DL: 4,5 cm, ergibt $\Delta(Na^+)$ nach einmaliger Passage: 1,1 %.

möglich ist. Einige Untersucher (80, 164) veränderten den Druck durch Variation der Perfusionsrate und konnten demzufolge die gemessene Änderung der Transportraten nicht eindeutig einem der beiden veränderten Parameter als Ursache zuschreiben. Diese grundsätzliche Schwierigkeit ließ sich dadurch umgehen, daß der Strömungswiderstand in dem Abschnitt des Perfusionskreislaufs, in dem kein Druckabfall erwünscht ist, sehr klein gehalten wurde und im übrigen die Ohm'sche Gesetzmäßigkeit dadurch umgangen wurde, daß der Perfusionskreislauf nicht in seinem gesamten Verlauf ein starres Rohr darstellt, sondern an einer Stelle durch ein erhöht angebrachtes offenes Gefäß geführt wurde (s. Abb.1). Dies verursachte die Einwirkung eines der Höhendifferenz entsprechenden hydrostatischen Drucks auf den bezüglich der Strömungsrichtung davor liegenden Abschnitt des Perfusionskreislaufs. Dieser Druck ist unabhängig von der Perfusionsrate und war in der hier benutzten Anordnung groß gegenüber dem Druckgradienten, der sich perfusionsratenabhängig längs des Darmes aufbaut.

Die verwendeten Perfusionsraten (235 bis 2050 $\mu l \cdot min^{-1}$) waren im Vergleich zu physiologischen Verhältnissen immer noch sehr groß: Die Kontaktzeit des Darminhalts durch den gesamten Dickdarm wird von Edmonds (46) für die Ratte mit Werten zwischen 30 und 6 Stunden angegeben, was bei einer Dickdarmlänge von 12 cm und einem Durchmesser von 7 mm durchschnittlichen Raten von 2,6 bis 12,8 $\mu l \cdot min^{-1}$ entspräche. Bei einer so niedrigen Flußrate ändert sich die Zusammensetzung des Darminhalts im Verlauf der Darmpassage stark, was zwar - teleologisch gesehen - den Sinn des Dickdarms ausmacht, in den vorliegenden Experimenten jedoch

aus meßtechnischen Gründen unerwünscht gewesen wäre.

4.1.4 Zusammensetzung der luminalen Lösung

Die Perfusionslösung wurde nicht unter dem Aspekt zusammengestellt, das natürliche luminale Angebot im Dickdarm (46) nachzuahmen, sondern in der Absicht, Konzentrationsgradienten als treibende Kräfte passiven Transports möglichst weitgehend auszuschalten. Zugleich sollte die Lösung nur aus wenigen Teilchensorten bestehen, deren Konzentrationen leicht meßbar sind. Es bot sich hier an, aus Gründen der Vergleichbarkeit der Ergebnisse die Lösung, die Lange et al. (99) benutzt hatten, zu übernehmen. Diese Lösung enthielt keine Kolloide, so daß ein positives Donnanpotential von einigen mV zu erwarten war; außerdem mußte, um die Anionenbilanz auszugleichen, eine etwas zu hohe Cl^--Konzentration (120 $mmol \cdot l^{-1}$) gewählt werden. Es ist bekannt, daß der Einfluß von kleinen Konzentrationsgradienten der Elektrolyte (außer Natrium (15)) und der Teilchenzahl insgesamt auf deren Nettotransport sowie auf die pD am Colon und Rectum vernachlässigbar ist (37, 51). Glucose wurde der Lösung nicht zugesetzt, da diese den Na- und Wassertransport nur im Dünndarm, nicht jedoch im Dickdarm steigert (128, 135).

4.1.5 Messung des Volumentransports

Die benutzte gravimetrische Volumentransportmeßmethode ist einfach, recht empfindlich und hat den Vorteil, kontinuierlich und sofort ablesbare Ergebnisse zu liefern; die Meßgenauigkeit ist dabei - im Gegensatz zu Konzentrationsmessungen - unabhängig

vom Gesamtvolumen des Perfusats. Ein Nachteil der Methode besteht in der Störanfälligkeit der Messung durch Inkonstanz des Darmvolumens. Man kann in diesem Zusammenhang zwischen 3 Arten von Darmvolumenschwankungen unterscheiden:

1. Nicht systematische Volumenschwankungen, verursacht z.B. durch Peristaltik. Sie beeinflussen auch die Messung nicht systematisch, sondern vergrößern lediglich die Streuung der Registrierung*).
2. Bekannte systematische Volumenänderungen. Ihr Einfluß kann rechnerisch erfaßt werden (s. Anhang Abschnitt 5.1.1 und 5.1.2).
3. Unerkannte systematische und damit die Messung verfälschende Volumenänderungen. Sie fallen um so stärker ins Gewicht, je kürzer die Meßperiode bzw. je länger anhaltend die Störung ist. Die Meßzeiträume wurden daher groß gewählt (>1 h) und es wurden keine Parameter (außer dem Druck, dessen Einfluß ermittelt wurde) verändert, die im Verdacht stehen, das Darmvolumen zu beeinflussen.

Beim Vergleich der Volumentransportraten (J_v^n) der verschiedenen Kollektive - die betreffenden Versuche erstreckten sich über etwa 15 Monate - fällt auf, daß die Mittelwerte unter Kontrollbedingungen nicht völlig gleich sind (s. Tab.2, 4 und 5). Die aufgetretenen Unterschiede sind mit einer Ausnahme (Tab.4, Colon) nicht signifikant; falls bei der einen Ausnahme nicht ein statistischer Fehler erster Art vorlag (143), könnte man lediglich Ursachen vermuten, die außerhalb des Einflußbereichs des Labors lagen, wie Einflüsse

---

*) In 26 zufällig ausgewählten Experimenten an Colon und Rectum betrug die Standardabweichung (SD) der kurzzeitigen Volumenschwankungen 3,1 $\mu l \cdot cm^{-2}$. Der Wert wurde mit Hilfe des R/S-Tests (38) unter Annahme der Normalverteilung der Schwankungen aus deren Spannweiten geschätzt.

verschiedener Jahreszeiten, Tierlieferungen oder Auftreten von Tierstallepidemien.
Die Mittelwerte aller gemessenen Volumentransportraten in Colon (SEM = ± 3.6, n = 28) und Rectum (SEM = ± 3.3, n = 20) sind in Tab.8 mit aufgeführt.

4.1.6 Messung der transepithelialen elektrischen Potentialdifferenz

Kontraluminale Elektrode
Da sich zwischen serosaler Epithelseite und der gesamten Extrazellulärflüssigkeit kein potentialbildender Prozeß befindet (71, 77, 140), konnte die "indifferente" Elektrode einfach in den Bauchraum gelegt werden.

Luminale Elektrode
Das untersuchte Darmsegment war zunächst einmal durch seine funktionelle Isolierung auch elektrisch definiert. Diese Segmentierung ist vermutlich der Grund dafür, daß zwischen Colon und Rectum noch eindeutigere Unterschiede gemessen wurden, als in nicht isolierten Darmabschnitten ((72), alle Edmonds-Arbeiten).
Die "differente" Elektrode befand sich, elektrisch gesehen, unmittelbar an einem Ende des eingebundenen Darmsegments. Dies bedeutet grundsätzlich, daß die elektrodennahe Darmlumenseite im Meßergebnis überrepräsentiert wird*).

---

*) Da Spannungsquellen in der Wand eines schlauchförmigen Leiters in Abhängigkeit von der elektrischen Längenkonstante λ durch die Wandleitfähigkeit kurzgeschlossen werden, geht ihr Potentialbeitrag mit wachsender Entfernung vom Meßfühler immer stärker verloren. λ ist bei gegebener Leitfähigkeit der Flüssigkeit und konstantem Lumendurchmesser vom spezifischen Epithelwiderstand R_T abhängig, (Kabeltheorie; Übersicht: (158), Diskussion der Voraussetzungen: (84)) und ist als diejenige Strecke definiert, über der eine Spannung auf 1/e (ca. 37 %) abfällt.

Elektrische Längenkonstanten des Darmes sind bisher nicht gemessen worden, jedoch ergibt sich überschlagsmäßig für das Rattencolon für R_T = 154 Ωcm^2 (54) etwa λ = 0,7 cm. Probeweises Anschließen der differenten Elektrode am oralen statt am aboralen Ende des Colons verursachte keine anderen Spannungswerte. Daraus folgt, daß sich das Potential des Colons längs dessen Achse wahrscheinlich sehr uniform verhält (vgl. auch Tab.5: pD in C.asc. mit C.desc.), so daß die Meßergebnisse daher repräsentativ für das gesamte Colon sein dürften.

Zur Messung der rectalen pD siehe Abschnitt 4.2.4; da R_T und λ längs des Rectums offensichtlich zunehmen, repräsentieren die gemessenen Werte etwa die Spannung an der Stelle des höchsten Potentials.

4.1.7 Kontrollgrößen

Tab.1 zeigt eine gute Konstanz der gemessenen Kontrollgrößen während der im Mittel 7 Stunden dauernden Narkose. Lediglich zwei Parameter hatten sich überhaupt signifikant verändert: Der pH-Wert und die Chloridkonzentration im Plasma.
Der pH-Wert stieg um 0,02 $-\log \cdot mol \cdot l^{-1}$ zwar signifikant, jedoch nur um einen geringen Betrag an. Als mögliche Ursachen für diesen Anstieg könnte man eine alveoläre Hyperventilation infolge Totraumverkleinerung nach Trachealkanülierung und eine Hyperventilation infolge nachlassender Narkosetiefe diskutieren. Gegen die zweite Möglichkeit spricht, daß der arterielle Blutdruck nicht anstieg und die Ratten nie äußere Zeichen zu flach werdender Narkose zeigten, wie z.B. Schmerz- und Geräuschempfindlichkeit oder spontane Motorik der Extremitäten.

Die Chloridkonzentration war von 104 auf 110 $mmol \cdot l^{-1}$ angestiegen. Da der Hämatokrit und die Konzentrationen von Na^+ und K^+ nicht verändert waren, kann nur ein Bilanzungleichgewicht unbekannter Ursache für Cl^- vermutet werden.

4.2 Diskussion der Ergebnisse

4.2.1 Perfusionsrate

In Relation zu der großen Zahl von veröffentlichten Perfusionsstudien insgesamt ist wenig darüber bekannt, ob und wie diejenigen Parameter, die eine Perfusionsanordnung physikalisch definieren, den transepithelialen Transport beeinflussen. Die beiden wichtigsten Parameter sind zum einen die Perfusionsrate und damit die lineare Strömungsgeschwindigkeit und zum anderen der transmurale hydrostatische Druck, einhergehend mit dehnungsbedingter Oberflächenvergrößerung.
Viele experimentelle Anordnungen zur Untersuchung dieser Größen kranken daran, daß Perfusionsrate und Druck nicht unabhängig voneinander geregelt werden konnten (40, 101, 104, 105, 119, 142, 153, 164). (Das gleiche gilt auch für Experimente an der Niere (22, 121, 139, 166); die Frage der Druckabhängigkeit des Flüssigkeitstransports im distalen Nephron ist dort bislang unentschieden (144)).

Die Autoren, die einen Einfluß der Perfusionsrate auf den Transport des Darmes gefunden haben, erklären diesen Effekt (Ausnahme: 164) mit einer Veränderung der Dicke der ungerührten Schichten (105, 142, 153, 173). "Unstirred layers" sind Schichten zwischen der bewegten Flüssigkeit und der Membranoberfläche. Die Teilchen, deren Transport in der bewegten Flüssigkeit durch Konvektion erfolgt, können die ungerührten Schichten nur durch Diffusion durchdringen. Da Diffusion u.a. vom Konzentrationsgefälle und der Diffusionskonstante einer betrachteten Teilchensorte abhängt (1. Fick'sches Gesetz), ergibt sich ein

Einfluß der "unstirred layer"-Dicke besonders für niedrig konzentrierte größere Moleküle (43). Tatsächlich fanden die genannten Autoren eine Perfusionsratenabhängigkeit auch lediglich für Glucose und Aminosäuren, deutlich ausgeprägt bei luminalen Konzentrationen unter ca. 20 $mmol \cdot l^{-1}$ und nicht für Na^+ und Wasser (105, 119). Um eine Dickenabnahme der ungerührten Schichten zu erzielen, waren außerdem mittlere Lineargeschwindigkeiten nötig, die oberhalb der in der vorliegenden Arbeit verwendeten (max. 5,3 $cm \cdot min^{-1}$) lagen. Winne (175) fand für das Jejunum der Ratte in vivo zwischen 3 und 6 $cm \cdot min^{-1}$ *) noch keinerlei Veränderung der auf andere Weise gemessenen "unstirred layer"-Dicke von 0,5 mm. Es kann deshalb geschlossen werden, daß 1. der Transport für Natrium und Wasser in den hier benutzten Konzentrationen nicht durch "unstirred layers" begrenzt wird und 2. die benutzten mittleren Lineargeschwindigkeiten die Dicke der ungerührten Schichten nicht beeinflussen. Da eine "unstirred layer"-Limitierung die einzig mögliche Erklärung für einen Einfluß der Perfusionsrate gewesen wäre, war es nicht verwunderlich, daß in den vorliegenden Experimenten keine Variation des Wassertransports, der, wie später gezeigt wird, vom aktiven Elektrolyttransport abhängt, auftrat.

4.2.2 Hydrostatischer Druck, Dehnung

Der Befund, daß unter erhöhtem luminalen hydrostatischen Druck der Wassertransport zunahm (Tab.4, Zeile A) könnte verschiedene Ursachen haben. Als

---

*) Originalangabe 0,5 und 1 $ml \cdot min^{-1}$. Angenommener Durchmesser des Jejunums 4,5 mm (176).

Möglichkeiten kommen in Betracht: Eine funktionelle Vergrößerung der den Transport vermittelnden Fläche infolge Dehnung, eine durch den Druck oder die Dehnung hervorgerufene Stimulation des aktiven Transports und ein direkter Effekt des Drucks auf den Wasserfluß.

Der letztgenannte Mechanismus ist der unwahrscheinlichste: Für die Annahme einer Filtration war die benutzte Druckvariation (15 cm H_2O) viel zu klein in Relation zur hydraulischen Leitfähigkeit (L_p) des Epithels und der Größe der Mehrresorption. Für den Dünndarm verschiedener Species sind L_p-Werte zwischen 0,09 und 2,12 (12, 62, 81, 100, 109, 174) für den Enddarm des Huhns 0,13 (17), für das menschliche Colon 0,48 (15) und für das Rattencolon 0,32 $\mu l \cdot h^{-1} \cdot mosmol^{-1} \cdot l \cdot cm^{-2}$ (81) bekannt; aus den eigenen Messungen hätte sich dagegen unter der Annahme, daß die beobachtete Mehrresorption allein auf druckpassivem Volumeneinfluß beruhe, für Colon und Rectum gleichermaßen ein "L_p" von 198 $\mu l \cdot h^{-1} \cdot mosmol^{-1} \cdot l \cdot cm^{-2}$ *) ergeben. Zu dieser Argumentation stehen vorkommende L_p-Veränderungen bei inversen Druckgradienten ($P_{Serosa} > P_{Mucosa}$) (82, 172) nicht im Widerspruch, da unter dieser Bedingung die Interzellulärspalten erweitert sind (21, 165), was zu einer starken Anisotropie der hydraulischen Leitfähigkeit von Epithelien führt.

---

*) Voraussetzungen: ΔJ_v^n an Colon und Rectum bei ΔP 15 cm H_2O jeweils 52,4 $\mu l \cdot h^{-1} \cdot cm\ DL^{-1}$; pauschale Oberfläche 2,2 $cm^2 \cdot cm\ DL^{-1}$; für hypothetische Teilchen mit dem Reflexionskoeffizienten 1 gilt 25,77 cm $H_2O \cdot mosmol^{-1} \cdot l$ bei 37° C.

Eine Stimulation des aktiven Transports durch den hydrostatischen Druck per se wurde von Nutbourne (125) an der Froschhaut schon bei 0,5 cm H_2O gefunden; dieses Ergebnis wurde jedoch von anderen Arbeitsgruppen widerlegt (24, 154).
An der Harnblase von Kröten wurde kein (106) bzw. ein deutlicher Effekt auf den aktiven Transport (74, 167) bei Dehnung, nicht jedoch bei luminaler Druckerhöhung gefunden (167). Als Ursache wird eine Stimulation des aktiven Transports angenommen, da die makro- und mikroskopische Oberflächenvergrößerung nicht mit einer ultramikroskopisch sichtbaren einherging (74). Nicht diskutiert wurde dabei jedoch bisher der Aspekt, daß für Transportphänomene nicht die morphologische sondern die funktionell zugängliche Fläche ausschlaggebend sein müßte: gefaltet aneinanderliegende Membranflächen könnten eine Transportlimitierung dadurch erfahren, daß nur wenig Substrat die lange Diffusionsstrecke bis zur Membran bewältigt (60). Da man für eine quantitative Abschätzung dieses Effektes die Flächen der funktionell behinderten Membrananteile und die Eigenschaften der jeweils vorgelagerten Diffusionswege als Maß ihrer Unzugänglichkeit benötigt, haben Vergleiche der Transportraten mit der zugehörigen morphologischen Oberflächenänderung (Tab.4, Zeile B) auch bei zufälliger Übereinstimmung noch keine Beweiskraft.

Daß in den vorliegenden Druckexperimenten die Volumentransportraten in Colon und Rectum anders zugenommen haben (Faktoren 1,40 und 1,93) als die pauschalen Oberflächen (Faktoren 1,45 und 1,59), könnte folgendermaßen erklärt werden: Das intraperitoneal liegende Colon könnte im Gegensatz zum

hauptsächlich extraperitoneal liegenden Rectum bei 18 cm H_2O noch nicht vollständig entfaltet sein, da vielleicht der intraperitoneale Druck höher ist als der extraperitoneale und/oder das Colon bei geringem Druck stärker gefaltet ist als das Rectum. Edmonds & Marriott (54) geben an, daß das Colon desc. narkotisierter Ratten bei 30 cm H_2O völlig entfaltet wird.

Insgesamt läßt sich sagen, daß die in vivo an Dünndarm (40, 118, 169) und Dickdarm (54) beobachtete Transportsteigerung bei luminaler Dehnung am wahrscheinlichsten, wie erstmals von Wells 1931 (169) vermutet, auf einer dehnungsbedingten funktionellen Oberflächenvergrößerung beruht. Wegen dieser Abhängigkeit ist es wesentlich, bei Transportmessungen am Darm den Druck definiert konstant zu halten.

4.2.3 Transportraten

Bei Betrachtung der in den Kontrollperioden gemessenen Transportraten und Potentialdifferenzen fällt zunächst auf, daß die Werte für Colon ascendens und Colon descendens sich nicht unterschieden, jedoch von denen des Rectums deutlich differierten (s. Tab.5). In welchem Verhältnis steht nun dieses Ergebnis zu anderen in der Literatur beschriebenen Transportraten? Mit Tab.8 wurde der Versuch unternommen, die Werte der wichtigsten Resorptionsstudien am Rattendickdarm in vivo durch Umrechnung auf Transport pro cm^2 pauschale Epitheloberfläche miteinander und mit den vorliegenden Ergebnissen direkt vergleichbar zu machen. Aus Spalte C ist zu ersehen, daß der untersuchte Darmabschnitt in vielen Fällen nicht genau definiert worden war; die vorliegenden Untersuchungen zeigen, daß dies unerläßlich ist.

A		B	C	D	E
		Darm-segment	Meßmethode J_V^n	J_V^n $\mu l \cdot h^{-1} \cdot cm^{-2}$	J_{Na}^n $\mu mol \cdot h^{-1} \cdot cm^{-2}$
1	vorliegende Arbeit	C a C d R	gravimetr.	86,3 75,5 30,5	18,4 15,8 4,6
2	Curran & Schwartz (35)	C (d?)	Hämoglobin	41	6,8
3	Edmonds (47)	C a C d	-	-	6,2 7,5
4	Dolman & Edmonds (44)	C a C d + R	-	-	3,6 2,2
5	Powell & Malawer (135)	C + R	PEG	37,3	11,7
6	Devroede & Phillips (41)	C (Mensch)	PEG	83,9	14,3
7	Phillips & Schmalz (134)	C a + d	PEG	54	16
8	Bright-Asare & Binder (23)	C + R	^{14}C-PEG	49,6	5,3
9	Behar (8)	C	^{14}C-PEG	91,6	20,5
10	Lange et al. (99)	(Cd+) R	volumetr.	40,9	6,2
11	Yau & Makhlouf (180)	C a C d	everted sac gravimetr.	76,5 68,5	16,3 12,8
12	Charney et al. (30)	C + R ?	^{14}C-PEG	11,7	4,1
13	Fisher et al. (61)	C + R	^{14}C-PEG	17,7	5,8

Tab. 8: Literaturübersicht über Transportraten und pD am Dickdarm der Ratte in vivo. (Ausnahmen Zeile 6: Mensch und Zeile 11: in vitro).
Spalte A: Die Arbeiten in den Zeilen 2 - 13 sind chronologisch geordnet.
Spalte B: C a = Colon ascendens, C d = Colon descendens, R = Rectum; die benutzten Segmente sind oft unexakt definiert.

F	G	H	I	J	K	L
J^n_K $\mu mol \cdot h^{-1} \cdot cm^{-2}$	J^n_{Cl} $\mu mol \cdot h^{-1} \cdot cm^{-2}$	$J^n_{HCO_3}$ $\mu mol \cdot h^{-1} \cdot cm^{-2}$	J^n_{osm} $\mu osmol \cdot h^{-1} \cdot cm^{-2}$	J^n_{Na}/J^n_V $mmol \cdot l^{-1}$	J^n_{osm}/J^n_V $mosmol \cdot l^{-1}$	pD mV
0,7 1,2 0,1 ns	16,7 19,0 7,0	1,0 ns -4,4 ns -2,5	35,4 29,2 9,0	213 209 152	410 387 294	} -12,3 -66,9
	9,1	-	-	166	-	- 7,3
1,1 1,0	-	-	-	-	-	- 6,0 - 7,3
0,3 0,4	6,9 6,9	-3,0 -4,3	7,8 5,2	-	-	- -12,0
0,1	9,5	+0,4	18,4	314	494	-
0,5	19,5	-4,7	28,6	170	341	-
1,6	16	-1	29,4	296	544	-
	6,5	-	-	108	-	-15,3
	-	-	-	224	-	-22,6
0,2	6,9	-0,9	12,0	151	293	-
0,0 ,0	16,3 15,1	-1,0 -2,3	30,9 26,1	213 187	403 380	- 5 - 6
0,1	-	-	-	347	-	-14,6
0,2	7,7	-2,4	10,9	329	615	-26,3

alten D - I: Die Angaben in den Zeilen 2 - 13 erfolgen ungeachtet möglicherweise fehlender gnifikanz gegen null.

nahmen zur Umrechnung der Transportraten pro cm^2 pauschale Epithelfläche:
1 cm Darmlänge (DL) = 2,2 cm^2 (176) [Zeilen 1 - 4, 7, 9, 10, 12].
5 mg Trockengewicht = 1 cm^2 (180) [Zeilen 5, 8, 11, 13].
DL Colon = 8,5 cm (46) [Zeile 7].
DL Colon des Menschen = 115 cm, mittlerer Durchmesser 5,75 cm (9) [Zeile 6].
alte H: $J^n_{HCO_3}$ in den Zeilen 1, 4 und 10 errechnet (s. Abschnitt 4.2.5)
alte I : J^n_{osm} in den Zeilen 1, 4, 6, 7, 10 und 12 errechnet als Summe der Spalten E - H.
alte L: Rectale pD in Zeile 1: Max. Wert, in Zeile 4: Anfangswert.

Aus der Tabelle läßt sich trotzdem ersehen, daß die gemessenen Transportraten gut mit den Ergebnissen anderer Arbeitsgruppen, bei denen der Volumentransport meist mit Markersubstanzen gemessen wurde, übereinstimmen. Bei Ergebnissen, die aus Colon- und Rectumabschnitte umfassenden Darmsegmenten gewonnen wurden (23, 61, 99, 135), fällt auf, daß sie größenordnungsmäßig meist zwischen den für Colon und Rectum getrennt ermittelten Werten der vorliegenden Arbeit liegen.

4.2.4 Transepitheliale Potentialdifferenz

Die auffälligsten Unterschiede zwischen Colon und Rectum zeigten sich im Verhalten der transepithelialen Potentialdifferenz (s.zB. Tab.7 und Abb.10A)*). Der grundsätzlich verschiedene Verlauf der pD läßt vermuten, daß zwischen diesen beiden Darmabschnitten funktionelle Differenzen hinsichtlich der Transportmechanismen bestehen müssen.
An dieser Stelle werden zunächst einige elektrophysiologische Aspekte der pD-Messungen diskutiert:

Der beobachtete Potentialanstieg im Rectum (Abb.2B, 3B, 6, 8C, 9 und 10A) wurde erstmals von Edmonds & Marriott (51) gesehen und später im eigenen Labor bestätigt (162). Dieser Anstieg wird von Edmonds & Marriott mit einer in Narkose erhöhten Aldosteronausschüttung erklärt (Diskussion hierzu s. Abschnitt 4.2.7). Diese Autoren haben die pD an 4 Stellen - 1, 3, 5 (im Text: 6) und 8 cm vom Anus entfernt -

---

*) Bei einigen Kollektiven (Azetazolamid, ADX, Aldosteron) wurde deshalb auf die Messung der Transportraten vorerst verzichtet, um ungestört die pD in Colon und Rectum zugleich messen zu können.

im ansonsten nicht experimentell unterteilten Rattendickdarm gemessen. Bei 3 und 5 bzw. 6 cm DL fanden sie einen ausgeprägten Potentialanstieg um im Mittel -46 mV innerhalb von 9 Stunden, während sie gleichzeitig bei 1 cm und bei 8 cm nur einen geringen Anstieg beobachteten (bei 1 cm -16 mV; bei 8 cm ohne Angabe, aber offensichtlich (Fig. 1) kleiner als bei 1 cm). Das Ergebnis bei 3 und 5 bzw. 6 cm stimmt bezüglich der Lokalisation mit den eigenen Befunden am 4-5 cm langen Rectum überein, wenn man berücksichtigt, daß die Ratten mit Körpergewichten zwischen 300 und 350 g etwa um den Faktor 1,4 schwerer waren als die eigenen und daher auch einen längeren Dickdarm gehabt haben müßten.

Der von Edmonds & Marriott (51) beobachtete im Vergleich zu den Werten bei 3 cm DL geringere Potentialanstieg bei 1 cm DL ist vergleichbar mit dem Befund von Fisher et al. (61) an 200-300 g schweren Ratten, die bei 2 cm DL (-13 mV) eine deutlich niedrigere pD fanden als bei 4 cm DL (-26 mV, keine Zeitabhängigkeit gemessen). Unter der Voraussetzung, daß den genannten Autoren kein Meßfehler in Form eines Kurzschlusses im Bereich des Anus unterlaufen ist, könnte man schließen, daß auch der Ursprungsort der in den vorliegenden Experimenten gemessenen hohen Potentialdifferenzen mindestens 3 cm vom Anus entfernt liegt. Aus dieser Annahme lassen sich einige Schlüsse bezüglich der elektrischen Eigenschaften der letzten 2 cm des Rectums ziehen: In den vorliegenden Experimenten am Rectum befand sich die differente Elektrode - elektrisch gesehen - direkt am Anus (s. Abb.1); trotzdem traten Spannungen bis zu -91 mV

($\bar{x}$ = 67 mV, s. Tab.7) auf, was nur möglich wäre, wenn λ in den letzten 2 cm des Darmes wesentlich größer ist, als für das Colon errechnet (s. Abschnitt 4.1.6). Der Widerstand weder des gesamten Rectums noch der letzten 2 cm sind bisher bekannt; deshalb sei die folgende spekulative Rechnung erlaubt:

Angenommen, die pD bei 3 cm DL (1) betrüge -150 mV (U_0) - ein Wert, der sicherlich von keinem Epithel überschritten werden kann - und die gemessene pD am Anus sei -90 mV (U_1), dann wäre die Längenkonstante 2,8 cm und entspräche damit einem Widerstand (σ) von 2,6 $k\Omega \cdot cm^2$ *). Aus dieser Spekulation läßt sich ableiten: Die in den letzten 2 cm gemessene pD (51, 61) könnte allein aus der Überkopplung der EMK bei 3 cm DL erklärt werden, falls ein ausreichend hoher Epithelwiderstand angenommen wird. Demnach würden die letzten 2 cm des Rectums zu der Gruppe der "dichten" Epithelien gehören und wären insofern mit dem Sammelrohr oder sogar mit der Harnblase vergleichbar.

Der interessante Nebenbefund, daß Colon und Rectum auf Dehnung bezüglich der pD verschieden reagieren, verstärkt den Verdacht, daß in diesen Darmabschnitten zwei grundsätzlich verschiedene potentialbildende Prozesse wirksam sind. Ohne weitere Untersuchungen sind jedoch keine Schlüsse möglich. Andere Autoren haben am Jejunum des Hundes (138) eine gleichsinnige Korrelation zwischen Dehungsdruck und pD und am Rattencolon widersprüchlicherweise eine gleichsinnige (54) aber auch eine ungleichsinnige (73) Korrelation gefunden.

---

*) Gleichung für "endliche" Kabel: $\lambda = 1/\text{arc cosh}\ (U_0/U_1)$ (85); $\sigma = \lambda^2 \cdot 2\rho/r$ (84). ρ: spez. Volumenwiderstand (60 $\Omega \cdot cm$), r: Radius des Kabelkerns (0,35 cm).

4.2.5 Amilorid

Die Wirkung des Diuretikums Amilorid ist an mehreren Epithelien relativ gut definiert: Schon die ersten Untersuchungen an Niere (4, 68), Froschhaut (3, 56), Krötenblase (10, 32), Krötendarm (126) und Speicheldrüsengang der Ratte (145) führten zu dem Ergebnis, daß die Transportraten für Na^+, K^+ und Volumen, die transepitheliale Potentialdifferenz, der Kurzschlußstrom und der O_2-Verbrauch nach Gabe auf die mucosale Epithelseite gesenkt wurden. Eine vergleichbare Wirkung bei Gabe auf die serosale Seite trat erst bei etwa 1000-fach höheren Amiloriddosen auf (10, 69). Dies zusammen mit dem Befund des sofortigen Wirkungseintritts und der restlosen und ebenso schnellen Auswaschbarkeit von der mucosalen Seite aus (55, 56, 122), führte zu der Auffassung, daß der Ort der Amiloridwirkung die Außenseite der mucosalen Membran ist, von wo aus die Droge den passiven Na^+-Einstrom in die Zelle behindert (64, 137). Das Amiloridmolekül soll hierbei eine leicht und rasch wieder lösbare Bindung am oder in der Nähe eines hypothetischen Na^+-Rezeptors der Zellmembran eingehen und dabei den Na^+-Einstrom an dieser Stelle vollständig blockieren. Dies führt zu einer Erhöhung des Membranwiderstandes auf der mucosalen Seite (148) und zu einer Abnahme des intrazellulären austauschbaren Na^+-pools (55, 122). Ob auch die serosale Membran direkt beeinflußt wird (83, 141), ist teilweise noch umstritten (107).
Die vorliegenden Ergebnisse am Rectum der Ratte lassen sich gut mit den oben angeführten Eigen-

schaften des Amilorid vereinbaren. Die Abnahme der Na^+-Resorption führt zu einem Abfall der pD bis zur Potentialumpolung, die Folge davon ist - so wird der K^+-Sparmechanismus des Diuretikums an der Niere erklärt (55) - eine Abnahme der dem elektrochemischen Gradienten folgenden K^+-Sekretion bis zur Umkehr der Transportrichtung. Unter Kurzschlußbedingung war am Kaninchencolon demzufolge der K^+-Transport null und wurde durch Amilorid nicht modifiziert (64). (Die kleinen K^+-Transportraten*) im Rectum und ihre Umkehr unter Amilorid waren in den vorliegenden Experimenten bei n = 8 noch nicht signifikant). Bei Betrachtung der Ladungsbilanz, die sich aus den Fluxen der gemessenen Ionensorten ergibt (Tab.5), fällt sofort deren Unausgeglichenheit am Rectum auf ($P < 0{,}02$), während diese Bilanz an den beiden Colonabschnitten nicht signifikant ($0{,}3 < P < 0{,}9$) unausgeglichen war. Für das Rectum muß daher entweder eine Anionensekretion oder eine Kationenresorption gefordert werden. Da die luminale Lösung außer den gemessenen Ionensorten Na^+ und K^+ keine weiteren Kationen enthielt (H^+ ist viel zu gering konzentriert, als daß es einen wesentlichen Flux ermöglichen könnte), kommt nur die Sekretion eines Anions in Frage: Das einzige Ion, dessen Transport nicht gemessen wurde, dessen Ausscheidung durch den Rattendickdarm aber gesichert ist (47, 127, 134), ist das Bicarbonat. Da HCO_3^--Sekretion und Cl^--Resorption elektrisch relativ unauffällig verlaufen,

---

*) Hierbei muß auch an die Möglichkeit gedacht werden, daß die ständig vorhandene Abschilferung von Epithelzellen ins Lumen nach deren Auflösung einen Beitrag zur gemessenen K^+-"Sekretion" liefern könnte (1).

wird von einigen Autoren (41, 64, 127, 133) ein Anionenaustauschmechanismus vermutet, wobei teilweise angenommen wird, daß das sezernierte Bicarbonat nicht dem Plasma entstammt, sondern hauptsächlich ein Produkt des Zellmetabolismus ist (29, 64).
Manche Autoren (z.B. 44, 64), die Bicarbonat nicht gemessen haben, errechnen $J^n_{HCO_3}$ aus der Unausgeglichenheit der Ladungsbilanz der gemessenen Ionensorten. Angewandt auf die vorliegenden Resultate, führt diese Methode zu dem Ergebnis, daß an Colon asc. und desc. keine signifikanten HCO_3^--Nettofluxe vorhanden sind. Am Rectum wäre $J^n_{HCO_3}$ vor und nach Amiloridgabe $-2,5 \pm 0,8$ bzw. $-6,8 \pm 1,1$ $\mu mol \cdot h^{-1} \cdot cm^{-2}$ *). Da eine direkte Wirkung von Amilorid auf $J^n_{HCO_3}$ nicht bekannt ist, muß man - wenn man nicht die Legitimität dieser Rechnung überhaupt anzweifeln will - diese Fluxänderung dem Einfluß der pD zuschreiben. Unter Annahme einer linearen Beziehung zwischen pD und $J^n_{HCO_3}$ läßt sich die Bicarbonatleitfähigkeit des Rectums aus den Daten dieser Arbeit mit ca. $0,14$ $\mu mol \cdot h^{-1} \cdot cm^{-2} \cdot mV^{-1}$ errechnen (entsprechender Wert bei (64): ca. $0,17$ $\mu mol \cdot h^{-1} \cdot cm^{-2} \cdot mV^{-1}$). Da der Flux bei 0 mV ungleich null wäre, könnte dieser nicht durch passiven Transport allein erklärt werden.

---

*) Streuungen entsprechend Fehlerfortpflanzungsgesetz (Gauss)

Wie aber kann die pD überhaupt positiv werden? Wenn man sich vorstellt, daß über einem Epithel gleichzeitig zwei einander entgegengesetzte Stromquellen wirksam sind, wobei die dem Na^+-Transport entsprechende diejenige mit dem kleineren Quellwiderstand ist und damit ihren schwächeren Widerpart überspielt, kann man folgern, daß eine Hemmung des Na^+-Transports die vorher verdeckte Stromquelle mit der entgegengesetzten pD in Erscheinung treten läßt. Dafür, daß diese Erklärung richtig ist, und daß nicht etwa die positive pD eine Amilorid-spezifische Wirkung darstellt, lassen sich zwei Gründe anführen: 1. An isolierten Sammelrohren des Kaninchens konnte die gleiche Spannungsumkehr wie nach Amiloridgabe auch hervorgerufen werden, indem entweder das luminale Natrium durch das nicht permeable Cholin ersetzt wurde oder indem der aktive Na^+-Transport durch Ouabain gehemmt wurde (157). 2. Die eigenen Versuche zur Aufstellung einer Dosis-Wirkungsbeziehung von Amilorid auf die transepitheliale Potentialdifferenz (Abb.6 und 7) haben gezeigt, daß die pD dosisabhängig kontinuierlich von stark negativen zu positiven Werten übergeht.

Ungeklärt war bis hierhin die Frage, welcher Mechanismus für die nach Amiloridgabe verbleibende positive pD im Lumen verantwortlich zu machen ist. Da die aktive Na^+-Resorption gehemmt und die K^+-Sekretion wahrscheinlich völlig sowie die postulierte HCO_3^--Sekretion - wie oben abgeleitet - teilweise passiv ist, außerdem mögliche aktive Anteile einer HCO_3^--Sekretion die pD in die falsche Richtung beeinflussen würden, kann man Na^+, K^+ und HCO_3^- als Ursache der positiven pD ausschließen. H^+-Sekretion liegt vermutlich nicht vor, da erstens die Perfusionsflüssigkeit ihr pH nie ins Saure veränderte und zweitens ein HCO_3^-- und H^+-Transport in die gleiche Richtung sehr unwahrscheinlich wäre. Demzufolge muß die positive rectale pD nach Amiloridgabe allein einer Cl^--Resorption zugeschrieben werden. Hierzu muß gefordert werden, daß dieser Transportvorgang aktiv ist *) (64). Der Cl^--Transport war am Rectum durch Amilorid nicht beeinflußt worden (gegensätzlicher Befund: (99); gleicher Befund: (64, 137)), was beweist, daß der aktive Cl^--Transport nicht mit dem (hier amiloridsensitiven) aktiven Na^+-Transport gekoppelt ist wie z.B. am Ileum (123) und vielleicht am Colon der Ratte.

---

*) Die geringe Konzentrationsdifferenz (Δ [Cl]) von ca. 10 $mmol \cdot l^{-1}$ könnte die gemessenen Fluxe nur unter der extremen Cl^--Leitfähigkeit von ca. $2 \cdot 10^{-4} cm \cdot s^{-1}$ erklären. In der Literatur für das Warmblüter-Colon angegebene Werte liegen dagegen nur bei $3{,}3 \cdot 10^{-6} cm \cdot s^{-1}$ (64), so daß nur ein kleiner Anteil (ca. 2 %) des gemessenen J^n_{Cl} durch Δ[Cl] allein verursacht sein kann.

Die Na^+-Transportraten am Rectum nahmen unter Amilorid um ca. 60 % ab (vgl. Tab.5). Bei der gleichen Amiloridkonzentration (10^{-4} mol·l^{-1}) nahm jedoch die pD um ca. 90 % ab (vgl. Abb.7). Das ist deshalb überraschend, weil sich J^n_{Na} linear mit der pD ändern sollte (148). Für die damit bestehende Diskrepanz zwischen den Transport- und den Potentialmessungen bieten sich zwei Erklärungen an:

1. Passiver Transport. Der verbleibende unerklärte Netto-Na^+-Flux (J^{nu}_{Na}) könnte passiver Natur sein, demnachdem allein dem elektrischen Gradienten folgen - der chemische Gradient ist 0 - und nicht von Amilorid blockierbare Transportwege benutzen (z.B. parazelluläre?). Bei einer pD von + 6,9 mV und J^{nu}_{Na} von 1,44 µmol·h^{-1}·cm^{-2} *) müßte eine amiloridunempfindliche Na^+-Leitfähigkeit (G_{Na}) von 5,6mS·cm^{-2} gefordert werden. Da jedoch die Gesamtleitfähigkeit (G_t) des ungeblockten Epithels ebenso groß ist (Rattencolon in vivo 6,5mS·cm^{-2} (54)), der Anteil von G_{Na} an G_t am nicht amiloridbehandelten Kaninchencolon jedoch nur 34 % ausmacht (64), ist diese Erklärung nicht ausreichend, um J^{nu}_{Na} als passiv bezeichnen zu können.

2. Aktiver amiloridunempfindlicher Transport. Der untersuchte Rectumabschnitt könnte - vielleicht nur an seinem oralen Ende - noch einen Anteil von amiloridunempfindlichen "colonartigen" aktiven Na^+-Transportwegen mit geringerer Elektrogenität als der des rectalen Na^+-Transportes besitzen. Der rectale Na^+-Transport bestünde dann aus zwei Anteilen:

---

*) 0,1·4,6 = 0,46; 1,9 - 0,46 = 1,44 (Zahlen aus Tab.5).

einem nur im Rectum vorkommenden elektrogenen*) und einem auch im Colon vorkommenden wenigstens teilweise elektroneutralen. Diese Erklärung hat viel für sich, da die unterschiedliche Elektrogenität des Na^+-Transportes in den beiden Abschnitten offensichtlich ist (vgl. Tab.5). (Falls der "colonartige" Na^+-Transport nur im oralen Teil des untersuchten Rectumabschnittes lokalisiert wäre, würde das eine ungleiche pD an beiden Enden des Rectums zur Folge haben, die aber wegen der kurzen Längenkonstante auf die Messung nur am aboralen Ende keinen Einfluß gehabt hätte.)

Folgende Befunde weisen auf Verschiedenheiten der Na^+-Transportmechanismen zwischen Colon und Rectum hin:

1. Die Stelle des passiven Na^+-Eintritts in die Zelle ist am Colon anders beschaffen als am Rectum, und zwar sowohl in Hinsicht auf die Empfindlichkeit für Amilorid als wahrscheinlich auch auf die für Aldosteron (s. später).
2. Der Na^+-Transport des Colons ist wesentlich weniger elektrogen als der des Rectums: Obwohl die Transportraten 2,5-3fach größer sind, ist die pD wesentlich kleiner.

---

*) Entsprechend der Terminologie von Schultz et al. (147) kann man den aktiven Na^+-Transportprozeß in der basal-lateralen Membran als "rheogen" bezeichnen. Da jedoch in die resultierende transepitheliale elektrische Spannung weitere, durch den aktiven Na^+-Transportmechanismus induzierte potentialbildende Prozesse eingehen (z.B. Diffusionspotentiale), wird der Na^+-Transport insgesamt hier mit dem übergeordneten Begriff "elektrogen" bezeichnet.

3. J^n_{Na} und J^n_{Cl} sind am Colon im Gegensatz zum Rectum etwa gleich groß. Der Chloridtransport scheint demnach - anders als im Rectum, wo die Möglichkeit nicht ausgeschlossen werden kann - im Colon nicht im Austausch mit HCO_3^- zu erfolgen.

Schultz et al. (148) haben gezeigt, daß unter Amilorid die Abnahme des transepithelialen Potentials am Kaninchendickdarm überwiegend durch eine Abnahme des "elektrogenen" Na^+-Influxes*) über der apikalen Membran zu erklären ist, während sich das aus dem Spannungsteilerverhältnis errechnete Potential über der basal-lateralen Membran nicht signifikant veränderte. Wenn Amilorid die Elektrogenität des Na^+-Influxes hemmt und dadurch das negative transepitheliale Potential verkleinert, ist es verlockend in Kenntnis dieser Tatsache zu spekulieren, daß die unterschiedliche Wirkung von Amilorid an Colon und Rectum zustandekommt, indem es nur den "elektrogenen" Na^+-Influx hemmt und daß der nicht durch Amilorid hemmbare Na^+-Influx am Colon wesentlich weniger oder gar nicht das apikale Membranpotential verringert. So könnte man auch erklären, daß die pD am Colon trotz des größeren J^n_{Na} kleiner als am Rectum ist.

---

*) Das Potential über der apikalen Membran kommt bekanntlich im überwiegenden Maße durch einen passiven K^+-Efflux aus der Zelle zustande. Dieses Potential wird durch den genannten Na^+-Influx verkleinert. Eine Veränderung des Na^+-Influxes führt deshalb zu einer gegensinnigen Veränderung dieses Membranpotentials. Wenn im Text von einem "elektrogenen" Na^+-Influx gesprochen wird, ist damit nicht ausgedrückt, daß das apikale Potential allein durch die Elektrogenität des Na^+-Influxes zustandekommt.

Um einen nicht das apikale Membranpotential beeinflussenden Na^+-Influx erklären zu können, könnte man weiter spekulieren, daß an der apikalen Membran des Colons ein gekoppelter und damit "elektroneutraler" Na^+Cl^--Influx stattfindet, wie er z.B. am Kaninchenileum gefunden worden ist (123).

4.2.6 Amilorid plus Azetazolamid

Dieses Versuchsprotokoll war im Hinblick auf den Vergleich des Rectums mit dem CCT der Niere analog den Experimenten von Stoner et al. (157) durchgeführt worden. Am CCT hatte sich nach Amiloridgabe die pD auf ca. + 10 mV umgepolt und war nach Zugabe von $2 \cdot 10^{-4} mol \cdot l^{-1}$ Azetazolamid auf die serosale Seite auf ca. + 1,5 mV abgesunken.
Genau den gleichen Effekt fanden Ziegler et al. (181) bei prinzipiell gleichem Versuchsprotokoll an Krötenblasen mit normaler Carboanhydrase-Aktivität (CAH). Bei einer CAH-armen Krötenart trat jedoch keine Wirkung auf. Azetazolamid hemmt die Carboanhydrase; dieses Enzym wiederum ist für eine H^+-Sekretion bzw. HCO_3^--Resorption eine wichtige Voraussetzung (13, 114), woraus geschlossen worden ist, daß die positive pD an Krötenblase und CCT durch einen elektrogenen H^+- bzw. HCO_3^--Transport zustandekommen könnte.
Einen den obengenannten Befunden sehr ähnlichen Einfluß hatte Azetazolamid auch auf die pD des Rectums; es muß deshalb diskutiert werden, ob dieses Diuretikum auch hier den HCO_3^--Transport beeinflußt hat:
Unter Azetazolamid wurden in der vorliegenden Arbeit keine Transportraten gemessen. Ob am Colon, an dem die pD jedenfalls unbeeinflußt blieb, der Transport

beeinflußt wurde, kann daher nicht entschieden werden. Dies ist jedoch wahrscheinlich der Fall: 1. Nellans et al. (124) hatten noch weiter proximal (Kaninchenileum in vitro) ohne Änderung der pD und des Kurzschlußstromes eine Verminderung des Cl^--Influxes in die Zelle (J^{mc}_{Cl}) gefunden. Da an diesem Darmsegment eine Kopplung zwischen J^{mc}_{Cl} und J^{mc}_{Na} besteht, war gleichzeitig auch der Na^+-Transport vermindert. 2. Phillips & Schmalz ((134), keine pD-Messung) fanden unter Azetazolamid am Rattencolon in vivo eine Abnahme von J^n_v, J^n_{Na}, J^n_{Cl} und $J^n_{HCO_3}$. Falls in den vorliegenden Experimenten der gleiche Effekt am Colon aufgetreten war, kann man jedenfalls sagen, daß er elektrisch stumm verlaufen ist. Das würde die am Ende von 4.2.5 geäußerte Spekulation über den gekoppelten elektroneutralen Na^+- und Cl^--Influx stützen.

Am Rectum kann die Abnahme der positiven pD wegen der falschen Polarität nicht mit einer überwiegenden Abnahme der HCO_3^--Sekretion erklärt werden, sondern nur durch eine überwiegende Verringerung der Cl^--Resorption; d.h., es muß jedenfalls $\Delta J^n_{Cl} > \Delta J^n_{HCO_3}$ gewesen sein.

Da Azetazolamid im CCT der Kaninchenniere auch in Abwesenheit von Cl^- im Perfusat wirkte, mußte dort eine Hemmung einer HCO_3^--Resorption vorgelegen haben (157, 168). Wie der CCT in einer Stoffwechsellage, in der er HCO_3^- sezerniert (115) (vgl. Abschnitt 4.2.8 (Nettoflüsse)), auf Azetazolamid reagiert, ist bisher nicht untersucht. Insofern kann der von Stoner et al. (157) gefundene Effekt dieser Substanz trotz seiner Ähnlichkeit mit den vorliegenden Befunden am Rectum nicht direkt mit diesen verglichen werden.

4.2.7 Zeitlicher Verlauf der rectalen pD und Einfluß von Aldosteron

Der von Edmonds & Marriott (51) an narkotisierten Normaltieren beobachtete zeitabhängige Potentialanstieg war mit ca. 8 $mV \cdot h^{-1}$ bis zur fünften Stunde nur halb so steil wie in den vorliegenden Experimenten (s. Tab.7, $\Delta pD/\Delta t$), flachte dann ab und blieb bis zum Versuchsende in der neunten Stunde konstant erhöht. In den vorliegenden Experimenten sank dagegen die rectale pD, nachdem sie ein Maximum durchlaufen hatte, in nahezu spiegelsymmetrischer Weise wieder ab.

Wie kommt nun dieser auf das Rectum beschränkte charakteristische Verlauf der pD überhaupt zustande? Da für die Entwicklung der pD ganz überwiegend der aktive Na^+-Transport verantwortlich ist (148), sind im Prinzip folgende Mechanismen denkbar: Entweder verringert sich bei konstantem Na^+-Transport die elektrische Leitfähigkeit des Epithels, so daß es zu einem größeren Spannungsabfall über dem Epithel kommt (s.u., Punkt 1); oder bei konstanter Leitfähigkeit ändert sich der Na^+-Transport aufgrund luminaler Faktoren (s.u., 4. und 5.) oder endogener (endokriner) Faktoren (s.u., 2, 3 und 6 ff).
Der Beantwortung dieser Frage kommt man näher, indem man zunächst einmal einige Entstehungsmöglichkeiten ausschließt:
1. Zellschwellung. Als Ausdruck einer unspezifischen Schädigung könnten die Epithelzellen während der Versuchsdauer anschwellen. Dadurch könnten die Weite

der Interzellulärspalten und deshalb die elektrische Epithelleitfähigkeit abnehmen. Folglich würde die EMK in geringerem Maße kurzgeschlossen werden und das transepitheliale Potential könnte ansteigen. Gegen diese Möglichkeit sprechen folgende Befunde: a) die spontane Rückkehr des Potentials zu niedrigen Werten mit darauffolgendem Wiederanstieg in Langzeitversuchen an Normaltieren (s. Abb.10A), b) das Ausbleiben des Effekts am Colon, das ebenso betroffen sein müßte. c) Die Tatsache, daß sich experimentell bisher keine Korrelation von pD und elektrischer Leitfähigkeit nachweisen ließ (97).

2. Nervaler Einfluß. Lennane et al. (102) haben einen ß-Rezeptor-vermittelten Einfluß des autonomen Nervensystems auf die transepitheliale Spannung des Kaninchencolons gefunden. Zweistündiges "handling" der wachen Tiere führte zu einem Anstieg der pD von -10 auf -27 mV. Dagegen, daß dieser Mechanismus den Potentialanstieg im Rattenrectum verursacht haben könnte, sprechen zwei Argumente: a) Der Effekt trat auch an adrenalektomierten Kaninchen auf. b) Eigene Vorversuche mit ß-Blockade (Propranolol) und ß-Stimulation (Isoprenalin, Dosen jeweils wie bei (102)) zeigten keinen eindeutigen Einfluß auf die rectale pD der Ratte.

3. ADH. Ratten in Narkose befinden sich anfangs immer in Antidiurese, was auf eine starke ADH-Ausschüttung zurückzuführen ist. Von ADH ist auch bekannt, daß es den Transport (93, 103) und die pD des Dickdarms steigert (76). Gegen einen wesentlichen Beitrag einer ADH-Wirkung zur pD-Entwicklung spricht jedoch, daß a) die Ratten in der Regel nach ca. 2 h wieder eine

normale Diurese hatten, ohne daß der pD-Anstieg dadurch beeinflußt worden war, und daß b) Ratten mit und ohne i.v. Infusion von Elektrolyt-Grundlösung den pD-Anstieg in gleicher Weise zeigten.

4. Luminales Na^+-Angebot. Die pD ist bis zur Sättigung der aktiven Pumpen der luminalen Na^+-Konzentration proportional (41, 51, 52). Da die luminale Lösung eine höhere Na^+-Konzentration als der natürliche Darminhalt besaß (46), könnte diese Erhöhung den pD-Anstieg verursacht haben. Dagegen spricht: a) Auch wenn dem Rectum zunächst eine Na^+-freie cholinhaltige Lösung für mehrere Stunden angeboten wird, führt der Wechsel zu Na^+-haltiger Lösung zu einem sprunghaften Potentialanstieg auf Werte, wie sie zu erwarten gewesen wären, wenn die Na^+-haltige Lösung von Anfang an im Lumen gewesen wäre (97). b) siehe Argument 7a) (verzögerte Spülung ohne Effekt).

5. Andere luminale Faktoren. Gegen den Einfluß weiterer das Darmlumen betreffender Faktoren wie Auswaschung der Gallensalze (16, 63, 65), Auftreten andersartiger oder Verlust der natürlichen Darmflora (163), Mehrproduktion, veränderter Stoffwechsel oder Wegspülung von Mucus (unstirred layers) sprechen: a) der phasische Verlauf der pD (s. 1a), b) die Unabhängigkeit davon, ob instilliert oder perfundiert wurde, c) die Unabhängigkeit von der Perfusionsrate (s. Abb.2) und d) das Auftreten des pD-Anstieges auch am nicht segmentierten und leergespülten Rectum (97).

Danach bleiben als Ursache des Potentialanstieges vor allem noch verschiedene Weisen einer stimulierten Aldosteron-Ausschüttung zu diskutieren (51):

6. Stress der wachen Ratte. Zu einer Aldosteronausschüttung könnte es bereits vor und während der Narkoseinjektion kommen. Dagegen spricht: Bei den Kollektiven Azetazolamid, Langzeit, ADX und ADX + Aldosteron wurde die Narkose in modifizierter Weise eingeleitet: Die Ratten wurden zunächst "unbemerkt" in ihrem abgedeckten Käfig mit Halothan^{R} (2,5 %, Fa. Hoechst, Frankfurt/M.) narkotisiert; erst danach wurde Inactin in der üblichen Dosierung i.p. gespritzt; trotzdem stieg die pD in gewohnter Weise an.
7. Stress durch OP. Das Präparieren und Spülen des Darmes ist ein großer operativer Eingriff, der zu einer Aldosteronausschüttung führen könnte. Dagegen spricht: a) In Pilotexperimenten wurde die Bauchoperation und die Darmspülung erst 4 h nach Narkosebeginn durchgeführt; die pD war bei Registrierbeginn sofort so hoch, wie es etwa der Narkosedauer nach zu erwarten war. b) In Experimenten ohne Operation und Spülung stieg die rectale pD ebenfalls an (97).
8. Dehydratation. Während des Experiments könnte es zu einer Dehydratation und/oder Na^{+}-Verarmung des Tieres gekommen sein, wodurch Aldosteron hätte ausgeschüttet werden können. Dagegen sprechen: a) Die schon genannten Argumente (s. 1a) phasischer Verlauf und (3b) Infusion ohne Einfluß), b) die gute Konstanz der vitalen Parameter (s. Tab.1).
9. Narkose. Die einzige Möglichkeit die übrigbleibt, besteht darin, daß Aldosteron als Folge der Narkose selbst ausgeschüttet wird. Falls ausreichend Natrium im Lumen vorhanden ist, steigt 2 h später der aktive Na^{+}-Transport und damit die transepitheliale pD an. Der physiologisch wichtigste Auslöser der Aldosteronsekretion ist die funktionelle Kette Renin-Angioten-

sin-Aldosteron (117). Von Pettinger et al. (132) ist gezeigt worden, daß viele der üblicherweise benutzten Anaesthetika eine Reninfreisetzung an der Ratte verursachen (Inactin nicht geprüft). Die Erhöhung der Reninaktivität im Plasma dauert z.B. unter Pentobarbitalnarkose etwa 1 Stunde an.
Weitere Experimente sind nötig, um die sich aufdrängende Hypothese zu erhärten, daß der beobachtete Potentialanstieg am Rattenrectum letztlich durch eine narkoseinduzierte Reninfreisetzung mit folgender Aldosteronausschüttung verursacht wird.

Daß Aldosteron und nicht Renin der unmittelbar auslösende Faktor des Potentialanstiegs ist, geht daraus hervor, daß am adrenalektomierten Tier die akute Gabe einer Aldosteroneinzeldosis den unter Kontrollbedingungen beobachteten Potentialverlauf wiederherstellen konnte.

Von Edmonds & Marriott (50, 53) war bereits gezeigt worden, daß die pD adrenalektomierter Ratten zu Versuchsbeginn niedrig ist und daß Aldosteronsubstitution die pD hauptsächlich des terminalen Dickdarms, in geringem Maße aber auch des restlichen Dickdarms ansteigen läßt.*) In den vorliegenden Experimenten konnte gezeigt werden, daß die pD unsubstituierter Tiere auch bei längerer Versuchsdauer nicht ansteigt, und daß sie bei einmaliger

---

*) 1. Daß mit der von Edmonds et al. benutzten Meßtechnik regionale Unterschiede eher geglättet, während sie mit der hier verwendeten Methode eher scharf dargestellt werden, ist bereits diskutiert worden (Abschnitte 4.1.6 und 4.2.4).
2. Einen deutlichen Effekt auf die pD des Colons fanden die Autoren (53) erst bei Infusionen unphysiologisch hoher Aldosterondosen.

akuter Gabe von 8 µg Aldosteron bei 200 g KGW nach dem schon beschriebenen Anstieg (50, 53) im Rectum wieder abfällt und insgesamt einen Potentialverlauf zeigt, der von dem normaler Tiere nicht signifikant differiert. Hieraus und in Kenntnis der Ausschlußgründe für andere Entstehungsursachen läßt sich folgendes schließen:
Der charakteristische pD-Verlauf des Rectums kann bei normalen Ratten durch eine einmalige, vielleicht durch Renin stimulierte Aldosteronausschüttung zu Beginn der Narkose, z.B. während des Exzitationsstadiums, erklärt werden. Diese Ausschüttung könnte etwa ebenso groß sein wie die benutzte Substitutionsdosis, da eine lineare Beziehung zwischen dem Logarithmus der Aldosterondosis und der rectalen pD nachgewiesen worden war (53). Die Dosis entspräche damit etwa dem 10-fachen der normalen Stundenproduktion (ca. 3,5 $\mu g \cdot h^{-1} \cdot kg^{-1}$ KGW) (28, 57, 151). Der Potentialanstieg beginnt, wenn - bei einer biologischen Halbwertszeit von 20 min (2) - das Aldosteron bereits zu 99,2 % abgebaut ist.

Als Mechanismen, mit deren Hilfe Aldosteron den transepithelialen Na^+-Transport stimulieren könnte, werden z.Zt. diskutiert: Eine Steigerung der intrazellulären Energiebereitstellung ("Energase"), eine direkte Stimulierung des aktiven Transports ("Stimulase") und eine Erleichterung des apikalen Eintritts von Na^+ ("Permease") (Übersichten, allgemein: (110), Niere: (89), Colon: (49)). In neueren Publikationen wird besonders der zuletzt genannte Mechanismus für entscheidend gehalten (44, 49, 58, 150). Eine Stimulierung des aktiven Na^+-Transports durch Aldosteron muß jedenfalls dann zum Anstieg der pD führen, wenn Aldosteron den elektrogenen

Na^+-Transport steigert und die elektrische Leitfähigkeit des Epithels nicht gleichzeitig proportional erhöht. Letzteres scheint nicht der Fall zu sein (54). Die Ursache dafür könnte darin liegen, daß bei einem Epithel mit einer Leitfähigkeit zwischen der von "dichten" und "undichten" (67, 146) die parazelluläre Leitfähigkeit mindestens eine Größenordnung über der des transzellulären Weges liegt, daß heißt von den Eigenschaften der Zellmembran weitgehend unabhängig ist (66), und nicht erkennbar ist, wie Aldosteron die parazelluläre Leitfähigkeit verändern sollte. Daraus folgt, daß der pD-Anstieg am Rectum unter der Einwirkung von Aldosteron auf die Steigerung eines elektrogenen Na^+-Transports zurückzuführen und dieser Steigerung proportional sein muß.

Am Colon wurde die pD durch Aldosteron nicht beeinflußt. Allerdings haben Dolman & Edmonds (44) nach 6-stündiger Infusion von 30 $\mu g \cdot h^{-1} \cdot kg^{-1}$ KGW Aldosteron sowie nach Na^+-Verarmung den Wasser- und Na^+-Nettotransport nicht nur in einem Darmsegment, das Colon descendens und Rectum umfaßte, sondern auch im Colon ascendens normaler Ratten erhöht gefunden. Die pD stieg dabei nach Aldosterongabe im Colon ascendens geringer, im Bereich 3-5 cm vom Anus jedoch stark an (keine Zahlenangabe). Nach Adrenalektomie war der Nettotransport ebenfalls auch im Colon ascendens gehemmt, stärker sogar als im distalen Dickdarmabschnitt.

Eine weitreichende Schlußfolgerung, die aus Experimenten verschiedener Autoren abgeleitet wird, kann nur mit Vorsicht gezogen werden; mit dieser Einschränkung läßt sich sagen, daß am Colon von Ratten

ein zwar durch Aldosteron beeinflußbarer Na^+-Transport vorhanden ist; diese Komponente ist jedoch - im Gegensatz zum Rectum - nicht oder kaum elektrogen. Aldosteron hat demnach an diesen beiden Darmsegmenten bei der Ratte verschiedene Wirkungen.

Grundsätzlich kann diese Verschiedenheit zwei Ursachen haben:
1. Unterschiedliche Transportmechanismen in Colon und Rectum.
Sämtliche Befunde unter Amilorid, Azetazolamid und Aldosteron sprechen, wie oben abgeleitet, für diese Möglichkeit.
2. Verschiedener Wirkungsmechanismus des Aldosterons, zB. unterschiedliche Anteile der "Permease-", "Energase-" oder "Stimulase"-Wirkung an den verschiedenen Darmsegmenten.
Ob zusätzlich auch die zweite Möglichkeit in Betracht kommt, kann aus den vorliegenden Ergebnissen nicht geschlossen werden. An dieser Stelle seien jedoch folgende Überlegungen zum Antagonismus zwischen Amilorid und Aldosteron angestellt:

Eine pauschal betrachtet entgegengesetzte Wirkung zu Aldosteron hat an vielen Epithelien Amilorid: Es hemmt den transepithelialen Natriumtransport. Da diese Hemmung an der Niere auch in Abwesenheit von Aldosteron beobachtet wurde (75), fand die Bezeichnung "Pseudo-Aldosteron-Antagonist" Eingang in die Literatur (86). Am Rectum der Ratte konnte von Lange et al. eine Wirkung auf den Tansport dagegen nur in

Gegenwart von Aldosteron, und nicht bei adrenalektomierten Tieren beobachtet werden (99, 162). Diesem Befund zufolge wäre Amilorid am Rectum der Ratte im Sinne der Definition kein "Pseudo-Aldosteron-Antagonist". Am Colon der Ratte konnte überhaupt keine Wirkung von Amilorid auf J^{n}_{Na} beobachtet werden, obwohl Aldosteron dort den Na^{+}-Transport beeinflußt (44).

Man könnte demnach formulieren, daß Amilorid am Dickdarm der Ratte die Wirkung von Aldosteron nur an den Orten hemmt, an denen jenes auch auf die pD wirkt. Umgekehrt kann man jedenfalls im Hinblick auf den gesamten Dickdarm sagen, daß Aldosteron nur diejenige pD beeinflußt, die durch Amilorid-sensitiven Na^{+}-Transport erzeugt wird.

Zusammenfassend kann festgestellt werden, daß der Nachweis unterschiedlicher Einflüsse sowohl von Aldosteron wie von Amilorid qualitative funktionelle Unterschiede zwischen Colon und Rectum der Ratte aufgedeckt hat.

4.2.8 Funktioneller Vergleich verschiedener Abschnitte des Dickdarms und des distalen Nephrons

Bei einem Vergleich der Eigenschaften des Dickdarms mit denen von Segmenten des Nephrons ist es zunächst naheliegend, den Dickdarm überhaupt dem distalen Tubulus zuzuordnen (7). Nachdem - hauptsächlich durch die Untersuchungstechnik an isolierten Kaninchentubuli (26) - anhand funktioneller und morphologischer Kriterien eine Unterteilung der distalen Nephronabschnitte in distalen corticalen Tubulus (DCT) und corticales Sammelrohr (CCT) (177) eingeführt worden ist, können die vorliegenden Ergebnisse am Rattendickdarm mit Eigenschaften dieser definierten Abschnitte verglichen werden.*)

---

*) Inzwischen ist das distale Nephron von Morel et al. (120) noch weiter unterteilt worden (Übersichten: (90, 98, 179): Während die Einteilung in DCT und CCT noch mit den anatomischen "Verlaufskriterien", wie sie von Mikropunkteuren verwendet werden, übereinstimmt (Definition des distalen Tubulus (= DCT) als der Abschnitt von der Macula densa bis zum ersten Zusammenfluß zweier Nephrone (90)), ist dies bei Morel et al. (120) nicht mehr der Fall: Die Autoren fanden 4 verschiedene distale Nephronabschnitte, die sie mit a, b, g und l bezeichneten. Der erste Abschnitt (DCTa) wurde, obwohl in Strömungsrichtung hinter der Macula densa gelegen, funktionell dem corticalen Anteil des dicken aufsteigenden Anteils der Henle'schen Schleife zugeordnet. Die letzten beiden Segmente können in ihrem Verlauf schon Zusammenflüsse aufweisen; sie heißen folglich DCTg bzw. CCTg und DCTl bzw. CCTl. Der Abschnitt b kommt nur als DCTb vor.
Die im folgenden Text zitierten Autoren haben für ihre Segmenteinteilung unterschiedliche Methoden benutzt; deshalb muß ihre Terminologie beibehalten werden. Um jedoch zu einer einheitlichen Aussage zu kommen, wird der passende Begriff der Einteilung nach Morel et al. (120) diesen Angaben in Klammern angefügt.

Unter dem Aspekt funktioneller Ähnlichkeiten mit dem distalen Nephron werden folgende Parameter nochmals diskutiert: Nettoflüsse, pD, Amilorid und Aldosteron; Tab.9 gibt einen Überblick über diese Diskussion.

A) Nettoflüsse. J^n_{Na} und J^n_V verhalten sich beide an Colon zu Rectum wie 2-3 zu 1 (vgl. Tab.5). Am frühdistalen (DCTb?) im Vergleich zum spätdistalen Tubulus (CCT1?) verhalten sich die gleichen Größen wie 2 zu 1. Die Angaben für die Niere stützen sich auf TF/P-Werte (88, 91), die jedoch proportional zu den Nettofluxen sind: das Vermögen des spätdistalen Tubulus, Na^+ gegen einen steilen Gradienten zu transportieren, wird dadurch erkauft, daß der Flux geringer ist als im frühdistalen Tubulus.

Außerdem wurden am isolierten CCT(1) mit J^n_{Na} = 5,0, J^n_K = -1,3 und J^n_{Cl} = 3,8 /umol·h^{-1}·cm^{-2} (157) Transportraten pro cm^2 pauschale Epithelfläche gemessen, die quantitativ - K^+ ausgenommen - gut mit den hier am Rectum gefundenen Werten übereinstimmen (vgl. Tab.5).

Zwischen Nierentubulus und Dickdarm besteht ein grundsätzlicher Unterschied bezüglich des HCO_3^--Transports: Im distalen Tubulus wird HCO_3^- resorbiert (14, 113) und lediglich im CCT(1) wurde nach Gabe von $NaHCO_3$ eine Sekretion von HCO_3^- beobachtet (115), während im Colon und Rectum HCO_3^- stets sezerniert wird (47, 48, 134). Teleologisch gesehen ist dies auch sinnvoll; der Nierentubulus muß das filtrierte HCO_3^- zurückgewinnen, und damit eine metabolische Azidose verhindern, während der Darm durch Bicarbonatsekretion die von Darmbakterien produzierten organischen Säuren neutralisieren muß (48).

	A		B	
	Colon	a: DCT (b) b: frühdistal	Rectum	a: CCT (l) b: spätdistal
J^n_{Na}, J^n_v (A/B; B = 1)	2 - 3	b: 2 (91)	1	a: 1 (157) b: 1 (91)
pD (mV)	-12	b: -9 (178)	-58	a: -35 (157) b: -52 (178)
Amilorid J^n_{Na}	ns	b: ns (45)	↓	b: ↓ (45)
Amilorid pD	ns	CAL : ns (157) DCTa: +2,5 mV (5)	↓↓ (Umk.)	a: ↓↓ (Umkehr) (157) b: ↓↓ (Umkehr) (5)
Aldosteron J^n_{Na}	↑ (44)	b: ↑ (91)	↑ (44)	b: ↑ (91)
Aldosteron pD	ns	a: ns (78)	↑↑	a: ↑↑ (78)

Tab. 9: Vergleich des Dickdarms mit dem distalen Nephron. In Spalte A wird das Colon (asc. + desc.) mit dem DCT (b), in Spalte B das Rectum mit dem CCT (l) verglichen.

Die eingeklammerten Zahlen bezeichnen Literaturangaben; die Aussagen ohne Literaturangabe entstammen der vorliegenden Arbeit. Als Einheit in der Zeile J^n_{Na}, J^n_V ist den Fluxen willkürlich in Spalte B der Wert 1 gegeben worden, um einen von den absoluten Transportraten unabhängigen Vergleich mit Spalte A zu ermöglichen.

ns = kein signifikanter Effekt.

B) transepitheliale Potentialdifferenz. Wright (178) fand in Mikropunktionsexperimenten einen axialen pD-Gradienten, der sehr gut mit dem am Dickdarm beobachteten übereinstimmt: frühdistal (DCTb?) -11 mV und spätdistal (DCTl?) -49 mV ($\bar{X}$ aller Kontrollmessungen). Während der spätdistale Wert unumstritten ist (5, 20) wurden in jüngerer Zeit frühdistal auch leicht positive Spannungen gemessen: Barratt et al. (6) fanden Werte um +4 mV, die an relativ großkalibrigen Elektrodenspitzen gemessen wurden. Die Autoren betonen außerdem, sehr frühdistal punktiert zu haben. Da andere Autoren an corticalen Teilen der aufsteigenden Henle'schen Schleife (CAL) des Kaninchens vergleichbare Werte gefunden haben (27, 157) - in diesem Segment wird Cl^- aktiv resorbiert (25) - , könnte auch der Verdacht entstehen, daß die verschiedenen Ergebnisse eher durch unterschiedliche axiale Lokalisation der Punktionsstellen zustande gekommen ist: Bei sehr frühdistaler Messung könnte der DCTa punktiert worden sein, der in seinen Eigenschaften mehr der CAL als dem übrigen DCT ähnelt (120). Ungeachtet dieses Problems herrscht jedoch Einigkeit darüber, daß die pD entlang des distalen Tubulus negativer wird (20, 90, 98).

C) Amilorid. Stoner et al. (157) hatten am corticalen dicken aufsteigenden Schenkel der Henle'schen Schleife keinen Effekt auf die pD gefunden. Dies stimmt sowohl mit den Befunden von Barratt überein (5) - die frühdistale (DCTa?) pD änderte sich nur gering von + 8 auf + 10,5 mV - als auch mit denen von Duarte et al. (45) - weder TF/P_{Na} noch TF/P_K waren frühdistal beeinflußt. Das heißt, daß der frühdistale

Tubulus (bzw. DCTa - DCTb?) ebenso wie das Rattencolon nicht auf Amilorid reagiert. Ganz anders, und zwar genau so wie das Rectum, antwortete der spätdistale Tubulus (CCT1) auf die Droge bei allen drei Autoren: Die pD sank von negativen Werten her kommend ab und kehrte sich um (5, 157); TF/P_K und TF/P_{Na} stiegen an ((45); die gemessene pD war bei diesen Autoren nicht regional differenziert gemessen worden).

D) Aldosteron. Ein zeitabhängiger pD-Anstieg in Narkose unter Kontrollbedingungen wurde bisher an der Niere oder an anderen aldosteronsensitiven Epithelien nicht berichtet. Es sind zwei Gründe für diese Verschiedenheit denkbar:
1. Das Rattenrectum könnte besonders aldosteron-empfindlich sein und/oder 2. die anderen Epithelien können unter experimentellen Bedingungen nicht 5 Stunden lang in ausreichend gutem Funktionszustand gehalten worden sein.
Der von Gross et al. (78) an DCT(b?) und CCT(l?) beobachtete ca. 1 h dauernde Potentialanstieg (im CCT nur bei hohem Aldosteronspiegel im Blutplasma) ist wahrscheinlich technischen Gründen zuzuschreiben (Erholung und Aufwärmung des Epithels nach der Präparation).

Die von diesen Autoren (78) erstmals gezeigte regionale Spezifität der Aldosteronwirkung auf die pD ausschließlich des CCT hat in der Nierenphysiologie eine Kontroverse ausgelöst (90), da vorher in Mikropunktionsuntersuchungen ein Effekt auf den Na^+-Transport im gesamten distalen Tubulus (DCTb-CCT1?) gefunden worden war (31, 91).
Ehe mit diesen Befunden diskutiert werden kann,

muß darauf hingewiesen werden, daß es z.Zt. noch nicht möglich ist, die Ergebnisse aus Mikropunktionsexperimenten mit den an isolierten Tubuli gewonnenen in Einklang zu bringen: Es fällt z.B. bisher schwer, an isolierten Tubuli einen Nettovolumentransport nachzuweisen (115, 157) und am isolierten DCT wird eine wesentlich höhere pD gefunden als in Mikropunktionen des gleichen Tubulusabschnittes (78). Ob diese Unterschiede nur durch technische Schwierigkeiten oder auch durch Speziesunterschiede zwischen Ratten und Kaninchen zustandekommen, ist bisher nicht geklärt.

Da es jedoch äußerst wichtig wäre, eine einheitliche Arbeitshypothese der regionalen Wirkung von Aldosteron zu formulieren, sei hier mit gebotener Vorsicht darauf hingewiesen, daß nach den oben zitierten zusammen mit den eigenen Befunden Aldosteron J^{n}_{Na} am gesamten distalen Nephron und am gesamten Dickdarm (44) steigert, die pD jedoch nur am CCT(l?) und Rectum erhöht. Damit würde die von Gross et al. (78) zwar formulierte aber noch für unwahrscheinlich gehaltene Hypothese an Wahrscheinlichkeit gewinnen, daß nämlich Aldosteron am DCT(b?) auf einen elektroneutralen und am CCT(l?) auf einen elektrogenen Na^{+}-Transport wirkt, ähnlich also wie es in der vorliegenden Arbeit für das Colon bzw. das Rectum vermutet wird.
Ob sich diese einheitliche Hypothese aufrechterhalten läßt, müssen zukünftige Experimente mit simultaner Messung der Transportraten und der pD zeigen.

Es muß schließlich gefragt werden, welchen teleologischen Sinn die Aldosteronsensibilität des Dickdarms besitzt. Könnte der Dickdarm, da er nicht dem escape-Phänomen unterliegt (159), Teil eines langfristig arbeitenden Regelsystems zur Na^+-Konservierung sein? Es scheint so zu sein, denn 7-11tägige Aldosteroninfusion führte zu einer Verringerung des Natriumgehalts im Stuhl von 47 auf 4 $mmol \cdot kg^{-1}$ Stuhlwasser (159). Daß jedoch die Hauptaufgabe des Aldosterons die Regelung der enteralen Na-Ausscheidung sein soll (49), muß in Anbetracht der zu geringen absoluten Ausscheidungsmengen in Frage gestellt werden.*)

Die funktionelle Unterteilung des distalen Nephrons hat bekanntlich auch ihr morphologisches (177) und embryologisches (94) Korrelat. Für den Dickdarm ergibt sich eine andere Situation: Zwar läßt sich schon lichtmikroskopisch Colon- von Rectumepithel unterscheiden; eine Zuordnung zwischen morphologischen Merkmalen und funktionellen Eigenschaften existiert aber bisher nicht. Ob sich eine eventuelle ultrastukturelle morphologische Veränderung an der gefundenen funktionellen Grenze feststellen läßt, scheint bisher nicht untersucht zu sein. Eine solche Untersuchung erscheint dringend angezeigt. Zur Entwicklungsgeschichte des Dickdarms läßt sich sagen, daß er - im Gegensatz zur Niere - dem entodermalen Blatt entstammt (9, 155)**). Interessant ist allerdings die phylogenetische

---

*) Na^+-Ausscheidung normal ernährter Ratten im Harn: 26 $\mu mol \cdot h^{-1}$ (171), im Stuhl: 7 $\mu mol \cdot h^{-1}$ (46).

**) Starck (155) betont allerdings, daß der Keimblattbegriff im Sinne einer Leistungsspezifität nicht haltbar sei und über das rein Deskriptive hinaus keinerlei Bedeutung für die Determination der Gewebe und Organe habe (S.131).

und ontogenetische Gemeinsamkeit eines Teils des Rectums und der ableitenden Harnwege. Die Cloake von Schlangen (95), Eidechsen (11) und Hühnern (17, 18) besitzt demzufolge auch ähnliche Eigenschaften sowohl wie das Rectum, als auch wie die Sammelrohre (160) und wie die Harnblase.
An dieser Stelle sei zur Vermeidung von Mißverständnissen nochmals angemerkt (vgl. Abschnitt 2.4), daß der in dieser Arbeit mit Rectum bezeichnete Darmabschnitt keineswegs mit dem menschlichen Rectum identisch ist. Wenn man bedenkt, daß der in der vorliegenden Arbeit als "Rectum" definierte Darmabschnitt etwa 25-35 % der gesamten Dickdarmlänge der Ratte ausmacht, müßte man vergleichsweise diesem Darmabschitt das menschliche Rectum plus etwa die Hälfte des Colon sigmoideum zuordnen (9). Tatsächlich hat Rask-Madsen (136) auch am Menschen axiale Unterschiede in der pD entlang dem Dickdarm gefunden mit einer deutlichen Grenze zwischen proximalen Abschnitten mit geringerer und distalen mit höherer Spannung. Diese Grenze liegt etwa 35 cm vom Anus entfernt. Bei einer angenommenen Dickdarmlänge von 130 cm (9) umfaßt dieses distale Segment beim Menschen demnach ca. 27 % der Länge des gesamten Dickdarms und ist damit anteilmäßig etwa genauso lang wie das Rectum der Ratte.

Zusammenfassend kann gesagt werden, daß der Dickdarm der Ratte, ebenso wie das distale Nephron eine ausgeprägte segmentale Heterogenität besitzt. Hinsichtlich der Transportmechanismen und der Anteile an der Gesamttransportrate des jeweiligen Organs von Na^+, K^+, Cl^- und H_2O, der transepithelialen pD und der

Wirkung von Amilorid und wahrscheinlich Aldosteron bestehen Ähnlichkeiten zwischen dem Colon der Ratte und dem frühdistalen Tubulus, genauer wahrscheinlich dem DCTb. Die gleiche funktionelle Verwandtschaft ergibt sich für die hier als Rectum definierten terminalen 4 bis 5 cm des Rattendickdarms mit dem spätdistalen Tubulus, oder genauer, mit dem DCT1 bzw. CCT1 der Niere.

Die vorgelegten Befunde sollten zwei Folgen haben:
1. Untersuchungen am Dickdarm sollten nur noch an exakt definierten Abschnitten vorgenommen werden.
2. Die am Dickdarm der Ratte gefundene regionale funktionelle Differenzierung sollte - vor allem auch durch morphologische Studien - präzisiert und verfeinert werden.

5 ANHANG

5.1 Berechnung des Volumentransports

Mit der beschriebenen Versuchsanordnung wurde als unmittelbare Meßgröße die Gewichtsänderung des im Reservoir befindlichen Perfusats erfaßt. Diese Gewichtsänderung steht über einen Proportionalitätsfaktor - das spezifische Gewicht der Lösung - in Beziehung zur Volumenänderung.*)
In den Abschnitten 2.9 und 4.1.5 wurde bereits geschildert, daß die Volumentransportraten auf druckbedingte Volumen- bzw. Transportratenveränderungen korrigiert werden können. Diese Korrekturen sind zwar nicht groß, jedoch systematischer Art und im übrigen rechnerisch leicht erfaßbar:

5.1.1 Änderung des Darmvolumens bei Volumentransport

Wenn der Darm Volumen resorbiert, sinkt der Pegel im Reservoir geringfügig und damit der hydrostatische auf das Darmlumen wirkende Druck; der Darm entdehnt sich und verschiebt dabei Volumen in das Reservoir. Das transportierte Volumen wird um diese Volumenverschiebung zu klein gemessen. Damit hierauf korrigiert werden kann, muß die Beziehung zwischen Druck und Volumen bekannt sein. Aus den Ölinstillationsexperimenten ergab sich im Bereich zwischen 3 und 18 cm H_2O unter der Voraussetzung einer linearen Beziehung ($\Delta V = k_1 . \Delta P$)
für das Colon $k_1^C = 14{,}2 \pm 0{,}6\ \mu l \cdot cm^{-1} H_2O \cdot cm^{-2}$
und für das Rectum $k_1^R = 15{,}9 \pm 1{,}0\ \mu l \cdot cm^{-1} H_2O \cdot cm^{-2}$.

---

*) Der eingestellte hydrostatische Druck wurde ebenfalls um diesen Faktor korrigiert. In den Ölinstillationsexperimenten wurde von vornherein die Ölsäule entsprechend höher eingestellt, z.B. für 18 cm H_2O auf 21,6 cm Öl.

Der gemessene Volumentransport wurde mit diesen empirischen Konstanten folgendermaßen korrigiert:

$$J_v^n = J_v^n\,(M)\cdot\left(1 + \frac{k_1}{\pi\cdot r^2}\right) \qquad (1)$$

wobei

J_v^n : Netto-Volumentransportrate, korrigiert ($ml\cdot h^{-1}$)

$J_v^n\,(M)$: Netto-Volumentransportrate, gemessen ($ml\cdot h^{-1}$)

k_1 : Druck/Volumen-Beziehung (hier: $ml\cdot cm^{-1}H_2O$)

r : Innenradius des Reservoirs (cm)

Der Faktor, um den bei einem Radius des Reservoirs von 1,45 cm korrigiert wird, beträgt etwa 1,05. In den Ölinstillationsexperimenten, in denen k_1 erst ermittelt und deshalb diese Korrektur nicht durchgeführt wurde, konnte das Reservoir mit r = 6,5 cm so groß gewählt werden, daß der Korrekturfaktor nur maximal 1,002 betragen hätte und damit vernachlässigt werden konnte.

5.1.2 Beeinflussung des Transports durch transportbedingte Druckänderung

In den Experimenten mit Variation des hydrostatischen Drucks (s. Tab.4) war gezeigt worden, daß die absolute Volumentransportrate eines Dickdarmsegments druckabhängig war. Da jeder Volumentransport - wie oben erläutert - zu einer Druckänderung führt, sollte zusätzlich zu der unter 5.1.1 beschriebenen Korrektur noch auf diese druckabhängige Transportratenveränderung korrigiert werden.

Aus den unter 3.1.2 beschriebenen Druckexperimenten läßt sich für den untersuchten Druckbereich, wiederum unter der Annahme eines linearen Zusammenhangs von der Form $\Delta J_v^n = k_2 \cdot \Delta P$, je ein Proportionalitätsfaktor für das Colon (k_2^C) und für das Rectum (k_2^R) gewinnen:

$k_2^C = 35 \pm 17\ \mu l \cdot h^{-1} \cdot cm^{-1} H_2O$ und

$k_2^R = 16 \pm 4\ \mu l \cdot h^{-1} \cdot cm^{-1} H_2O$

Der "wahre" Volumentransport J_v^n d.h. der, der bei konstantem Druck gemessen worden wäre, könnte mit diesen Konstanten aus den bereits nach Formel (1) auf den "Compliance-Effekt" korrigierten (2) Flußraten nach folgender Gleichung berechnet werden:

$$J_n^v = J_v^n\ (M) \cdot (1 + \frac{k_2 \cdot \Delta t}{\pi \cdot r^2}) \qquad (2)$$

wobei alle Größen die gleiche Bedeutung wie in Gleichung (1) haben und Δt [h] den Meßzeitraum angibt. Im ungünstigsten Falle, d.h. bei maximaler Darmlänge und am Colon hätte sich diese Korrektur auf den Faktor 1,003 belaufen. Sie wurde daher vernachlässigt.

5.1.3 Auswertung der Perfusionsexperimente mit Variation des hydrostatischen Druckes

Die Netto-Volumentransportrate unter Einwirkung des hydrostatischen Druckes von 18 cm H_2O konnte nicht aus der Gewichtsabnahme im Reservoir <u>während</u> dieses Meßzeitraumes bestimmt werden, da eine mehrere Stunden anhaltende Dehnung des Darmes die direkte

Messung unmöglich machte. In den Ölinstillationsversuchen war gezeigt worden, daß der Darm nach vorübergehender Druckerhöhung sein ursprüngliches Volumen sehr exakt wieder einnimmt (s. Abb.5): Die Verlängerung der Kurve bei dem Anfangsdruck von 3 cm vor Druckerhöhung trifft genau auf die des Enddrucks nach Drucksenkung. Das gleiche müßte auch für die Perfusionsexperimente gelten, falls die Nettovolumentransportrate durch die vorübergehende Erhöhung des hydrostatischen Drucks auf 18 cm H_2O nicht beeinflußt worden wäre. Falls aber, wie tatsächlich geschehen (s. Abb.3, ΔF_R^{18}), eine Parallelverschiebung der vor und nach der Druckerhöhung bei 3 cm H_2O gemessenen Kurven auftritt, kann man dies ausschließlich einer Änderung des Nettovolumentransports unter dem Einfluß des Druckes von 18 cm H_2O zuschreiben. Es gilt demnach:

$$J_v^n(18) = J_v^n(3) + \Delta V_R^{18} \cdot \Delta t_{18}^{-1} \qquad (3)$$

wobei

$J_v^n(18)$: Netto-Volumentransportrate bei P = 18 cm H_2O ($ml \cdot h^{-1}$)

$J_v^n(3)$: Netto-Volumentransportrate bei P = 3 cm H_2O ($ml \cdot h^{-1}$)

ΔV_P^{18} : In Volumenänderung umgerechnetes ΔF_R^{18} (ml)

Δt_{18} : Dauer der Einwirkung von P = 18 cm H_2O (h)

5.2 Berechnung des Substanztransports

Für den Nettotransport einer Substanz x durch die Darmwand gilt in der verwendeten Anordnung allgemein:

$$J_x^n = \frac{[x]_1 \cdot V_1 - [x]_2 \cdot V_2}{A \cdot \Delta t_{1-2}} \qquad (4)$$

wobei

J_x^n : Nettofluß von x pro Zeit- und Epithelflächeneinheit ($mol \cdot h^{-1} \cdot cm^{-2}$)

$[x]_{1,2}$: Konzentration von x im Perfusat zum Zeitpunkt t_1, bzw. t_2 ($mol \cdot l^{-1}$)

$V_{1,2}$: Volumen des Perfusats zum Zeitpunkt t_1, bzw. t_2 (l)

A : pauschale Epithelfläche (cm^2)

Δt_{1-2}: Meßzeitraum (h)

Am Ende jedes Meßzeitraumes wurde dem Perfusat eine Probe (1 ml) zur Konzentrationsmessung entnommen und sofort die gleiche Menge frische Lösung ergänzt (s. Abschnitt 2.10). Für den folgenden Meßzeitraum gilt deshalb:

$$J_x^n = \frac{[x]_1 \cdot (V_1 - V_P) + [x]_L \cdot V_P - [x]_2 \cdot V_2}{A \cdot \Delta t_{1-2}} \qquad (5)$$

wobei

V_P : Volumen der Probe (l)

$[x]_L$: Konzentration von x in der zugesetzten frischen Lösung ($mol \cdot l^{-1}$).

6 ZUSAMMENFASSUNG

Funktionell isolierte Segmente des Dickdarms narkotisierter Ratten wurden in situ perfundiert bzw. instilliert. In den drei Abschnitten Colon ascendens (Ca), Colon descendens (Cd) und Rectum (R) wurde die Wirkung von Amilorid auf die transepitheliale elektrische Potentialdifferenz (pD) und die Netto-Transportraten von Volumen, Na^+, K^+ und Cl^- (J_v^n, J_{Na}^n, J_K^n, J_{Cl}^n) gemessen. An (Ca+Cd) wurde im Vergleich zum Rectum derselben Tiere außerdem der Einfluß von Azetazolamid (i.a.) auf die pD nach vorheriger Amiloridexposition (luminal) untersucht. Ferner wurde an adrenalektomierten Tieren - ebenfalls im Vergleich von (Ca+Cd) mit R - der zeitliche Verlauf der pD ohne Aldosteronsubstitution und nach akuter einmaliger Aldosterongabe studiert.

Am Beginn der Arbeit standen methodische Untersuchungen über den Einfluß der physikalischen Perfusionsbedingungen. Sie ergaben, daß Flußratenänderungen zwischen 0,2 und 2 $ml \cdot min^{-1}$ keinen Einfluß auf J_v^n haben, daß aber eine Druckerhöhung von 3 auf 18 cm H_2O J_v^n reversibel erhöht. Dieser Effekt wird durch dehnungsbedingte Entfaltung der funktionellen Oberfläche erklärt.
Die übrigen Befunde lassen sich dahingehend zusammenfassen, daß zwischen den als Rectum bezeichneten terminalen 4-5 cm des Rattendickdarms und dem übrigen Dickdarm wesentliche funktionelle Unterschiede bestehen: Unter Kontrollbedingungen waren J_v^n und J_{Na}^n im Colon 2-3 fach größer als im Rectum. Die pD betrug im Colon zeitunabhängig -12 mV (Lumen negativ), während sie im Rectum einen biphasischen Verlauf zeigte: Von anfangs -6 mV stieg sie in 6 h auf ein Plateau von -67 mV an und fiel danach in nahezu spiegelsymmetrischer Weise wieder ab. Die vitalen Parameter der Versuchstiere waren währenddessen konstant.

Die gegenüber früheren Untersuchungen verbesserte experimentelle Technik erlaubte Langzeitregistrierungen der pD auch an adrenalektomierten Tieren. Dabei zeigte es sich, daß Adrenalektomie am Colon keinen wesentlichen Effekt auf die pD hatte, sie jedoch am Rectum zum Verschwinden brachte. Akute Gabe von 40 $\mu g \cdot kg^{-1}$ KGW Aldosteron i.a. konnte den oben beschriebenen biphasischen Verlauf der rectalen pD wiederherstellen, woraus sich außer der Latenzzeit auch die Wirkungsdauer einer akuten einmaligen Aldosterongabe abschätzen ließ. Als Ursache der rectalen pD-Veränderungen narkotisierter Tiere wird eine narkosebedingte Renin-Ausschüttung zur Diskussion gestellt, die ihrerseits zum vorübergehenden Anstieg der Aldosteronkonzentration im Plasma führt.
Amilorid hatte am Colon, außer einer geringen Verminderung von J_K^n am Cd, keinen Effekt. Im Gegensatz dazu erniedrigte es dosisabhängig die pD am Rectum (Halbwirkkonzentration $7 \cdot 10^{-6} mol \cdot l^{-1}$) und kehrte die Polarität bei $10^{-4} mol \cdot l^{-1}$ auf +7 mV um. Gleichzeitig verringerte es J_v^n und J_{Na}^n an diesem Darmabschnitt auf die Hälfte. Zusätzliche Gabe von Azetazolamid wirkte lediglich auf die pD des Rectums im Sinne einer Verringerung der nach Amilorid bestehenden positiven pD. Folgende funktionellen Unterschiede zwischen R und (Ca+Cd) müssen daher angenommen werden: 1. Amilorid blockiert eine elektrogene Na^+-Transportkomponente, die nur am Rectum, nicht aber am Colon vorkommt. Diese Transportkomponente ist dieselbe, die nur am Rectum nicht aber am Colon aldosteronabhängig ist. 2. Aldosteron stimuliert J_{Na}^n am Rectum und am Colon (Dolman & Edmonds (44)), aber die pD nur am Rectum. Es hat daher an diesen beiden Abschnitten eine unterschiedliche Wirkung. 3. Nur am Rectum tritt unter Amiloridblockade eine lumen-positive pD auf, die azetazolamidabhängig ist und durch eine aktive elektrogene Cl^--Resorption erklärt werden kann.

Soweit in der vorliegenden Arbeit quantitative Befunde erhoben wurden, sind diese mit Angaben anderer Autoren unter der Annahme vereinbar, daß bisher stets Anteile von Colontransport und Rectumtransport vermischt miteinander gemessen wurden. Aus den hier vorgelegten Befunden ergeben sich auffallende Parallelitäten der funktionellen Heterogenität des Dickdarmepithels und des Epithels des distalen Nephrons. Unter Bezug auf die Nomenklatur von Morel et al. (120) wird das Colon mit dem DCT(b) und das Rectum mit dem CCT(1) verglichen.

7 LITERATURVERZEICHNIS

1 Archampong,E.Q., J.Harris, C.G.Clark: The absorption and secretion of water and electrolytes across the healthy and the diseased human colonic mucosa measured in vitro. Gut 13, 880-886 (1972)

2 Ayres,P.S., O.Garrod, S.A.S.Tait, J.F.Tait, G.Walker, W.H.Pearlman: The use of 16-^{3}H-Aldosterone in studies on human peripheral blood. Ciba Fdn.Colloq.Endocr. 11, 309-326 (1957)

3 Baba,W.L., A.F.Lant, A.J.Smith, M.M.Townshend, G.M.Wilson: Pharmacological effects in animals and normal human subjects of the diuretic amiloride hydrochloride (MK 870) Clin.Pharmacol.Therap. 9, 318-327 (1968)

4 Baer,J.C., C.B.Jones, S.A.Spitzer, H.F.Russo: The potassium sparing and natriuretic activity of N-amidino-3,5-diamino-6-chloropyrazine carboxamide hydrochloride (Amiloride hydrochloride). J.Pharmacol.exp.Ther. 157, 472-485 (1967)

5 Barratt,L.J.: The effect of amiloride on the transepithelial potential difference of the distal tubule of the rat kidney. Pflügers Arch. 361, 251-254 (1976)

6 Barratt,L.J., F.C.Rector, J.P.Kokko, C.C.Tisher, D.W.Seldin: Transepithelial potential difference profile of the distal tubule of the rat kidney. Kidney Int. 8, 368-375 (1975)

7 Bastl,Ch., H.J.Binder, J.P.Hayslett: The mammalian colon - a model of distal tubule function. Fed.Proc. 35, 464 (1976)

8 Behar,J.: Magnesium absorption by the rat ileum and colon. Am.J.Physiol. 327, 334-340 (1974)

9 Benninghoff,A., K.Goerttler: Lehrbuch der Anatomie des Menschen. 2.Band, Eingeweide und Kreislauf. Urban und Schwarzenberg, München Berlin, 9. Aufl., (1971)

10 Bentley,P.J.: Amiloride: A potent inhibitor of Na transport across the toad bladder. J.Physiol. 195, 317-330 (1968)

11 Bentley,P.J., S.D.Bradshaw: Electrical potential difference across the cloaca and colon of the australian lizards Amphibiolurus ornatus and A. inermis. Comp. Biochem.Physiol. 42A, 465-471 (1972)

12 Berger,E.Y., R.Pecikyan, G.Kazaki: Water flux across the rat jejunum and ileum. J.appl.Physiol. 29, 130-132 (1970)

13 Berliner,R.W., J.Orloff: Carbonic anhydrase inhibitors. Pharmacol. Rev. 8, 137-174 (1956)

14 Bernstein,B.A., J.R.Clapp: Micropuncture study of bicarbonate reabsorption by the dog nephron. Am.J.Physiol. 214, 251-257 (1968)

15 Billich,Ch.O., R.Levitan: Effects of sodium concentration and osmolality on water and electrolyte absorption from the intact human colon. J.Clin.Invest. 48, 1336-1347 (1969)

16 Binder,H.J., C.L.Rawlins: Electrolyte transport across isolated large intestinal mucosa. Am.J.Physiol. 225, 1232-1239 (1973)

17 Bindslev,N., E.Skadhauge: Salt and water permeability of the epithelium of the coprodeum and large intestine in the normal and dehydrated fowl (gallus domesticus). In vivo studies. J.Physiol. 216, 735-751 (1971)

18 Bindslev,N., E.Skadhauge: NaCl absorption and solute-linked water flow across the epithelium of the coprodeum and large intestine in the normal and dehydrated fowl (gallus domesticus). In vivo perfusion studies. J.Physiol. 216, 753-768 (1971)

19 Bolie,S.J., F.J.Veith: Vascular disorders of the intestine. In: Vascular disorders of the intestine, ed. S.J.Boli; Meredith Corp. New York, 431 (1971)

20 Boulpaep,E.L.: Recent advances in electrophysiology of the nephron. Ann.Rev.Physiol. 38, 20-36 (1976)

21 Bourguet,J., E.Marie, N.Carasso, P.Favard: The effect of transepithelial hydrostatic pressure difference on water permeability and ultrastructure in frog urinary bladder. J.Microscopie 16, 225-232 (1973)

22 Brenner,B.M., C.M.Benett, R.W.Berliner: The Relationship between glomerular filtration rate and sodium reabsorption by the proximal tubule of the rat nephron. J.Clin.Invest. 47, 1358-1374 (1968)

23 Bright-Asare,P., Binder,H.J.: Stimulation of colonic secretion of water and electrolytes by hydroxy fatty acids. Gastroenterology 64, 81-88 (1973)

24 Brouha,A., A.Pequeux, E.Schoffeniels, A.Disteche: The effect of high hydrostatic pressure on the permeability characteristics of the isolated frog skin. Biochim.Biophys. Acta 219, 455-462 (1970)

25 Burg,M.B.: Tubular chloride transport and the mode of action of some diuretics. Kidney Int. 9, 189-197 (1976)

26 Burg,M.B., J.J.Grantham, M.Abramov, J.Orloff: Preparation and study of fragments of single rabbit nephrons. Am.J.Physiol. 210, 1293-1298 (1966)

27 Burg,M.B., N.Green: Function of the thick ascending limb of Henle´s loop. Am.J.Physiol. 224, 659-668 (1973)

28 Cade,R., T.Perenich: Secretion of aldosterone by rats. Am.J.Physiol. 208, 1026-1030 (1965)

29 Carlinsky,N.J., V.L.Lew: Bicarbonate secretion and non Na component of the short-circuit current in the isolated colonic mucosa of bufo arenarum. J.Physiol. 206, 529-541 (1970)

30 Carney,A.N., M.D.Kinsey, L.Myers, R.A.Gianella, R.E.Gots: Na^+-K^+-activated triphosphatase and intestinal electrolyte transport. Effect of adrenal steroids. J.Clin.Invest. 56, 653-660 (1975)

31 Cortney,M.A.: Renal tubular transfer of water and electrolytes in adrenalectomized rats. Am.J.Physiol. 216, 589-598 (1969)

32 Crabbé,J., E.N.Ehrlich: Amiloride and the mode of action of aldosterone on Na transport across toad bladder and skin. Pflügers Arch. 304, 284-296 (1968)

33 Csáky,T.Z., E.Gallucci: Seasonal variation in the active transporting ability and in the membrane ATPase activity of the frog intestinal epithelium. Biochim.Biophys.Acta 466, 521-525 (1977)

34 Culliton,B.J.: Cell membranes: A new look at how they work. Science 175, 1348-1350 (1972)

35 Curran,P.F., G.F.Schwartz: Na, Cl and H_2O transport by rat colon. J.Gen.Physiol. 43, 555-571 (1960)

36 Cuthbert,A.W., W.K.Shum: The effect of aldosterone on amiloride binding sites in toad bladder epithelial cells. J.Physiol. 245, 96P- 97P (1975)

37 Dalmark,M.: The transmucosal electrical potential difference across the human rectum in vivo following perfusion of different electrolyte solutions. Scand. J.Gastroent. 5, 421-426 (1970)

38 David,H.A., H.O.Hartley, E.S.Pearson: The distribution of the ratio, in a single normal sample, of range to standard deviation. Biometrika 41, 482-493 (1954)

39 Dawson,H., J.F.Danielli: The permeability of natural membranes. University Press, Cambridge (1943)

40 Dennhardt,R., F.J.Haberich: Einfluß des intraluminalen Drucks auf die Wasserresorption am Dünndarm wacher Ratten. Z.ges.exp.Med. 156, 151-156 (1971)

41 Devroede,G.J., S.F.Phillips: Conservation of Na, Cl and H_2O by the human colon. Gastroenterology 56, 101-109 (1969)

42 Diamond,J.M., W.H.Bossert: Standing-gradient osmotic flow: A mechanism for coupling of water and solute transport in epithelia. J.Gen.Physiol. 50, 2061-2083 (1967)

43 Dietschy,J.M., V.L.Sallee, F.A.Wilson: Unstirred water layers and absorption across the intestinal mucosa. Gastroenterology 61, 932-934 (1971)

44 Dolman,D., C.J.Edmonds: The effect of aldosterone and the renin-angiotensin system on sodium, potassium and chloride transport by proximal and distal rat colon in vivo. J.Physiol. 250, 597-611 (1975)

45 Duarte,C.G., F.Chomety, G.Giebisch: Effect of amiloride, ouabain, and furosemide on distal tubular function in the rat. Am.J.Physiol. 221, 632-639 (1971)

46 Edmonds,C.J.: The gradient of electrical potential difference and of sodium and potassium of the gut contents along the caecum and colon of normal and sodium-depleted rats. J.Physiol. 193, 571-588 (1967)

47 Edmonds,C.J.: The transport of sodium and secretion of potassium and bicarbonate by the colon of normal and sodium-depleted rats. J.Physiol. 193, 589-602 (1967)

48 Edmonds,C.J.: Salts and Water. Biomembranes, 4B, Intestinal absorption, ed. D.H.Smyth, Plenum Press, London, N.Y. 711-759 (1974)

49 Edmonds,C.J.: Effects of aldosterone on the colon. In: Intestinal ion transport, ed.: J.W.L. Robinson, MTP Press, Lancaster, 269-279 (1976)

50 Edmonds,C.J., J.Marriott: The effect of aldosterone and adrenalectomy on the electrical potential difference of rat colon and on the transport of sodium, potassium, chloride, and bicarbonate. J.Endocrin. 39, 517-531 (1967)

51 Edmonds,C.J., J.Marriott: Factors influencing the electrical potential across the mucosa of rat colon. J.Physiol. 194, 457-478 (1968)

52 Edmonds,C.J., J.Marriott: Electrical potential and short circuit current of an in vitro preparation of rat colon mucosa. J.Physiol. 194, 479-494 (1968)

53 Edmonds,C.J., J.Marriott: The effect of aldosterone on the electrical activity of rat colon. J.Endocrin. 44, 363-377 (1969)

54 Edmonds,C.J., J.Marriott: Na transport and short-circuit current in rat colon in vivo and the effect of aldosterone. J.Physiol. 210, 1021-1039 (1970)

55 Ehrlich,E.N., J.Crabbé: The mechanism of action of amipramizide. Pflügers Arch. 302, 79-96 (1968)

56 Eigler,J., J.Kelter, E.Renner: Wirkungscharakteristika eines neuen Acylguanidins - Amiloride HCl (MK 870) -an der isolierten Haut von Amphibien. Klin. Wschr. 45, 737-738 (1967)

57 Eilers,E.A., R.E.Peterson: Aldosterone secretion in the rat. In: Aldosterone, ed.: E.E.Baulien, P.Robel, Blackwell Scientific Publications, Oxford, (1964)

58 Erlij,D.: Solute transport across isolated epithelia. Kidney Int. 9, 76-87 (1976)

59 Finn,A.L.: Changing concepts of transepithelial sodium transport. Physiol. Rev. 56, 453-464 (1976)

60 Fisher,R.B.: The absorption of water and of some small solute molecules from the isolated small intestine of the rat. J.Physiol. 130, 655-664 (1955)

61 Fisher,K.A., H.J.Binder, J.P.Hayslett: Potassium secretion by colonic mucosal cells after potassium adaptation. Am.J.Physiol. 231, 987-994 (1976)

62 Fordtran,J.S., F.C.Rector, M.F.Ewton, N.Soter, J.Kinney: Permeability characteristics of the human small intestine. J.Clin.Invest. 44, 1935-1944 (1965)

63 Forth,W., W.Rummel, H.Glasner: Zur resorptionshemmenden Wirkung von Gallensäuren. Naunyn-Schmiedebergs Arch. Pharmak.exp.Path. 254, 364-380 (1966)

64 Frizzell,R.A., M.J.Koch, S.G.Schultz: Ion transport by rabbit colon. I. Active and passive components. J.Membrane Biol. 27, 297-316 (1976)

65 Frizzell,R.A., S.G.Schultz: Effect of bile salts on transport across brush border of rabbit ileum. Biochim. Biophys.Acta 211, 589-592 (1970)

66 Frömter,E.: The route of passive ion movement through the epithelium of necturus gallbladder. J.Membrane Biol. 8, 259-301, (1972)

67 Frömter,E., J.Diamond: Route of passive ion permeation in epithelia. Nature New Biol. 235, 9-13 (1972)

68 Gambos,E.A., E.S.Freis, A.Moghandam: Effects of MK-870 in normal subjects and hypertensive patients. New Engl. J.Med. 275, 1215-1220 (1966)

69 Gatzy,J.T.: The effect of K^+-sparing diuretics on ion transport across the excised toad bladder. J.Pharmacol. Exp. Therap. 176, 580-595 (1971)

70 Gaunt,R.: Water diuresis and water intoxication in relation to the adrenal cortex. Endocrinology 34, 400 (1944)

71 Geall,M.G., Ch.F.Code, D.C.McIlrath, W.H.J.Summerskill: Measurement of gastrointestinal transmural electric potential difference in man. Gut 11, 34-37 (1970)

72 Geall,H.G., R.J.Spencer, S.F.Phillips: Transmural electrical potential difference of the human colon. Gut 10, 921-923 (1969)

73 Gerard,J., G.Devroede, J.G.Postaire: Relationship between intraluminal pressure and potential differences variations in the perfused rat colon. Gastroenterology 68, A25 (1975)

74 Gfeller,E., M.Walser: Stretch-induced changes in geometry and ultrastructure of transporting surfaces of toad bladder. J.Membr.Biol. 4, 16-28 (1971)

75 Glitzer,M.S., S.L.Steelman: N-amidino-3,5-diamino-6-chloro-pyrazine-carboxamide; a potent diuretic in the carboxamide series which antagonizes the renal actions of aldosterone. Nature 212, 191-193 (1966)

76 Grady,G.F., R.C.Duhamel, E.W.Moore: Active transport of sodium hy human colon in vitro. Gastroenterology 59, 583-588 (1976)

77 Grantham,R.N., C.F.Code, J.F.Schlegel: Reference electrode sites in determination of potential difference across the gastrooesophageal mucosal junction. Mayo Clin. Proc. 45, 265-274 (1970)

78 Gross,J.B., M.Imai, J.P.Kokko: A functional comparison of the cortical collecting tubule and the distal tubule. J.Clin.Invest. 55, 1284-1294 (1975)

79 Gulden, van der, W.J.I., C.L.van Hooijdonk, P.de Jong, A.K.Kremer: Versuchstiere und Versuchstiertechnik. Gesellschaft für Versuchstierkunde, Basel, 1975.

80 Haberich,F.J., R.Herzer, O.Aziz, R.Dennhardt: Resorptions- und Sekretionsstudien am Darm. I. Mitteilung. Technik der extrakorporalen Perfusion beliebiger, vorübergehend funktionell isolierter Darmabschnitte an der wachen Ratte. Z.ges.exp.Med. 148, 223-237 (1968)

81 Haberich,F.J., R.Herzer, W.W.Ohm: Die Wasser- und Natrium-nettoflüsse am Dünndarm der wachen Ratte bei Perfusion mit verschieden konzentrierten NaCl-Lösungen. Z.ges.exp. Med. 150, 229-238 (1969)

82 Hakim,A.A., N.Lifson: Effects of pressure on water and solute transport by dog intestinal mucosa in vitro. Am.J.Physiol. 216, 276-284 (1969)

83 Hansen,L., U.Teuscher, G.Giebisch, M.Wiederholt: Influence of luminally administered amiloride, ouabain, and amphotericin B on peritubular membrane potential and net volume reabsorption in the distal tubule. Pflügers Arch. 359, R123 (1975)

84 Hegel,U., E.Frömter, T.Wick: Der elektrische Wandwiderstand des proximalen Konvolutes der Rattenniere. Pflügers Arch. 294, 274-290 (1967)

85 Helman,S.I., J.J.Grantham, M.B.Burg: Effect of vasopressin on electrical resistance of renal cortical collecting tubules. Am.J.Physiol. 220, 1825-1832 (1971)

86 Herken,H.: Pseudo-Antialdosterone. In: Handb.Exp.Pharmakol. Bd. 24, Diuretica, Ed. H.Herken, Springer Verlag, Berlin-Heidelberg-New York, 494-549 (1969)

87 Herken,H., G.Senft, J.Schaper: Die Beteiligung des Vasopressins an der Entstehung des Ödems. Naunyn-Schmiedebergs Arch.exp.Path.Pharmak. 230, 284 (1957)

88 Hierholzer,K.: Analyse der Na-Transportstörung in der Niere adrenalektomierter Ratten. Untersuchungen am Einzelnephron. Habilitationschrift, FU Berlin (1964)

89 Hierholzer,K., S.Lange: The effects of adrenal steroids on renal function. MTP Int.Rev.Sci., Physiology Ser. One, 6 Kidney and Urinary Tract Physiology, Ed. K.Thurau, 273-333 (1974)

90 Hierholzer,K., M.Wiederholt: Some aspects of distal tubular solute and water transport. Kidney Int. 9, 198-213 (1976)

91 Hierholzer,K., M.Wiederholt, H.Holzgreve, G.Giebisch, R.M.Klose, E.E.Windhager: Micropuncture study of renal transtubular concentration gradients of sodium and potassium in adrenalectomized rats. Pflügers Arch. 285, 193-210 (1965)

92 Hierholzer,K., M.Wiederholt, H.Stolte: Hemmung der Na-Resorption im proximalen und distalen Konvolut adrenalektomierter Ratten. Pflügers Arch. 291, 43-62 (1966)

93 Hornych,A, Ph.Meyer, P.Milliez: Angiotensin, vasopressin and cyclic AMP: effects on Na and H_2O fluxes in rat colon. Am.J.Physiol. 224, 1223-1229 (1973)

94 Huber,G.C.: The morphology and structure of the mammalian renal tubule. Harvey Lect. 5, 100-149 (1909)

95 Junqueira,L.C.U., G.Malnic, C.Monge: Reabsorptive function of the ophidian cloaca and large intestine. Physiol.Zool. 39, 151-159 (1966)

96 Koefoed-Johnsen,V., H.H.Ussing: The nature of the frog skin potential. Acta Physiol.Scand. 42, 298-308 (1958)

97 Krochmann,K.: In vivo-Experimente zur Aufklärung des Entstehungsmechanismus der transepithelialen elektrischen Potentialdifferenz am Rectum der Ratte. Med.Diss., FU Berlin (1978) (eingereicht)

98 Lameire,N.H., M.D.Lifschitz, J.H.Stein: Heterogeneity of nephron function. Ann.Rev.Physiol. 39, 159-184 (1977)

99 Lange,S., K.Veit, U.Hegel, H.U.Gutsche: Die Wirkung von Amilorid auf den Elektrolyttransport des Rattencolons und ihre Abhängigkeit von Mineralocorticoiden. Endokrinologie 63, 271-278 (1974)

100 Lauterbach,F.: Passive permeabilities of luminal and basolateral membranes in the isolated mucosal epithelium of guinea pig small intestine. Naunyn-Schmiedebergs Arch.Pharmacol. 297, 201-212 (1977)

101 Legoux,M., M.C.Lemaire, J.Thouvenot: Influence de la motricité intestinale sur l´absorption de l´eau et du glucose. Etude sur le duodénum irrigué in situ chez le rat anesthésié. Ann.Biol.anim.Bioch.Biophys. 17, 603-606 (1977)

102 Lennane,R.J., W.S.Peart, J.Shaw: Adrenergic influences on the electrical potential across the colonic mucosa of the rabbit. J.Physiol. 250, 367-372 (1975)

103 Levitan,R., I.Maurer: Effect of intravenous antidiuretic hormone administration on salt and water absorption from the human colon. J.Lab.Clin.Med. 72, 739-746 (1968)

104 Lewis.L.D., J.S.Fordtran: Effect of perfusion rate on luminal pressure and on the rate of urea and glucose absorption (with and without NaCl) in the rat ileum in vivo. Gastroenterology 66, 877 (1974)

105 Lewis,L.D., J.S.Fordtran: Effect of perfusion rate on absorption, surface area, unstirred water layer thickness, permeability, and intraluminal pressure in the rat ileum in vivo. Gastroenterology 68: 1509-1516 (1975)

106 Lief,P.D., B.F.Mutz, N.Bank: Effect of stretch on passive transport in toad urinary bladder. Am.J.Physiol. 230, 1722-1729 (1976)

107 Lindemann,B.: Impalement artifact in microelectrode recordings of epithelial membrane potentials. Biophys. J. 15, 1161-1164 (1975)

108 Lindemann,B., C.Voûte: Structure and function of the epidermis. Frog neurobiology, Ed. R. Llinás, W.Precht Springer-Verlag, Berlin-Heidelberg-New York, 169-210 (1976)

109 Loeschke,K., C.J.Bentzel, T.Z.Czáky: Asymmetry of osmotic flow in frog intestine: functional and structural correlation. Am.J.Physiol. 218, 1723-1731 (1970)

110 Ludens,J.H., D.D.Fanestil: The mechanism of aldosterone function. Pharmac.Ther. B 2, 371-412 (1976)

111 Lutz,J.: Hämodynamische Eigenschaften und Gefäßreaktionen der intestinalen Strombahn. Arch. Kreislaufforsch. 59, 99-152 (1968)

112 Lutz,J.: Druckkonstante Perfusion von Teilkreisläufen mittels einer druckgesteuerten Rollenpumpe mit analoger Durchströmungsregistrierung. Pflügers Arch. 335, R 89 (1972)

113 Malnic,G., M.de Mello Aires, G.Giebisch: Micropuncture study of renal tubular hydrogen ion transport in the rat. Am.J.Physiol. 222, 147-158 (1972)

114 Maren,T.H.: Carbonic anhydrase: Chemistry, physiology and inhibition. Physiol. Rev. 47, 595-781 (1967)

115 McKinney,T.D., M.B.Burg: Bicarbonate transport by rabbit cortical collecting tubules. J.Clin.Invest. 60, 766-768 (1977)

116 Meng,K.: Comparison of the local effects of amiloride hydrochloride on the isotonic fluid absorption in the distal and proximal convoluted tubule. Pflügers Arch. 357, 91-99 (1975)

117 Miller,R.E., A.J.Vander, R.S.Kowalczyk, G.W.Geelhoed: Aldosterone secretion and plasma renin during renin infusion an acute salt depletion. Am.J.Physiol. 214, 228-231 (1968)

118 Mirkovitch,V., H.Menge, J.W.L.Robinson: The effect of intraluminal hydrostatic pressure on intestinal absorption in vivo. Experientia 30, 912-913 (1974)

119 Modigliani,R., J.J.Bernier: Absorption of glucose, Na, and water by the human jejunum studied by intestinal perfusion with a proximal occluding balloon and at variable flow rates. Gut 12, 184-193 (1971)

120 Morel,F., D.Chabardès, M.Imbert: Functional segmentation of the rabbit distal tubule by microdetermination of hormone-dependent adenylate cyclase activity. Kidney Int. 9, 264-277 (1976)

121 Morel,F., Y.Murayama: Simultaneous measurement of unidirectional and net sodium fluxes in microperfused rat proximal tubules. Pflügers Arch. 320, 1-23 (1970)

122 Nagel,W., A.Dörge: Effect of amiloride on Na transport of frog skin I. Action on intracellular Na content. Pflügers Arch. 317, 84-92 (1970)

123 Nellans,H.N., R.Frizzell, S.G.Schultz: Coupled sodium-chloride influx across the brush border of rabbit ileum. Am.J.Physiol. 225, 467-475 (1973)

124 Nellans,H.N., R.A.Frizzell, S.G.Schultz: Effect of acetazolamide on sodium and chloride transport by in vitro rabbit ileum. Am.J.Physiol. 228, 1808-1814 (1975)

125 Nutbourne,D.M.: The effect of small hydrostatic pressure gradients on the rate of active sodium transport across isolated living frog-skin membranes. J.Physiol. 195, 1-18 (1968)

126 Parisi,M., P.J.Bentley: Effects of amiloride on respiration of the urinary bladder, intestine and sartorius muscle of toads. Biochim.Biophys.Acta 219, 234-237 (1970)

127 Parsons,D.S.: The absorption of bicarbonate-saline solutions by the small intestine and colon of the white rat. Q.J.Exp.Physiol. 41, 410 (1956)

128 Parsons,D.S., Wingate,D.L.: The effect of osmotic gradients on fluid transfer across rat intestine in vitro. Biochim.Biophys.Acta 46, 170-183 (1961)

129 Peters,G.: Der Einfluß von Nebennierenrindenhormonen auf die renale Wasser- und Elektrolytausscheidung bei adrenalektomierten und normalen Ratten nach Gabe von Wasser oder isotonischer NaCl-Lösung und im Durst. Arch.exp.Path.Pharm. 235, 155 (1959)

130 Peters,G.: Die renale Elektrolytausscheidung normaler und andrenalektomierter Ratten nach intravenösen Salzinjektionen und ihre Beeinflussung durch Corticosteroide. Arch.exp.Path.Pharm. 235, 185 (1959)

131 Peters,G.: Nebennierenrinden-Inkretion und Wasser-Elektrolythaushalt. G.Thieme Verlag, Leipzig, S. 58 (1960)

132 Pettinger,W.A., K.Tanaka, K.Keeton, W.B.Campbell, S.N.Brooks: Renin release, an artifact of anesthesia and its implications in rats. Proc.Soc.Exp.Biol. Med. 148, 625-630 (1975)

133 Phillips,S.F., C.F.Code: Sorption of potassium in the small and large intestine. Am.J.Physiol. 211, 607-613 (1966)

134 Phillips,S.F., P.F.Schmalz: HCO_3 secretion by the rat colon: Effect of intraluminal Cl and acetazolamide. Proc.Soc. Exp.Biol.Med. 135, 116-122 (1970)

135 Powell, D.J., S.J.Malawer: Relationship between water and solute transport from isoosmotic solutions by rat intestine in vivo. Am.J.Physiol. 215, 49-55 (1968)

136 Rask-Madsen,J.: Simultaneous measurement of electrical polarization and electrolyte transport by the entire normal and inflamed human colon during in vivo perfusion. Scand.J.Gastroent. 8, 327-336 (1973)

137 Rask-Madsen,J., K.Hjelt: Effect of amiloride on electrical activity and electrolyte transport in human colon. Scand.J. Gastroent. 12, 1-6 (1977)

138 Read,N.W., R.H.Smallwood, R.J.Lewin, C.D.Holdsworth, B.H.Brown: Relationship between changes in intraluminal pressure and transmural potential difference in the human and canine jejunum in vivo. Gut 18, 141-151 (1977)

139 Rector,F.C., F.P.Brenner, D.W.Seldin: Mechanism of glomerulotubular balance. I. Effect of aortic constriction and elevated ureter pelvic pressure on glomerular filtration rate, fractional reabsorption, transit time and tubular size in the proximal tubule of the rat. J.Clin.Invest. 45, 590-602 (1966)

140 Rehm,W.S.: Evidence that the major portion of the gastric potential originates between submucosa and mucosa. Am.J. Physiol. 147, 69 (1946)

141 Reuss,L., A.L.Finn: Dependence of serosal membrane potential on mucosal membrane potential in toad urinary bladder. Biophys.J. 15, 71-75 (1975)

142 Rey,F., F.Drillet, J.Schmitz, J.Rey: Influence of flow rate on the kinetics of the intestinal absorption of glucose and lysine in children. Gastroenterology 66, 79-85 (1974)

143 Sachs,L.: Angewandte Statistik. Springer Verlag, Berlin-Heidelberg-New York, 4. Aufl. (1974)

144 Schnermann,J.: Physical forces and transtubular movement of solutes and water. MTP Int. Rev. of Science, Physiology Series One, Vol. 6, Kidney and Urinary Tract Physiology 157-198 (1974)

145 Schneyer,L.H.: Amiloride inhibition of ion transport in perfused excretory duct of rat submaxillary gland. Am.J.Physiol. 219, 1050-1055 (1970)

146 Schultz,S.G.: The role of paracellular pathways in isotonic fluid transport. Yale J.Biol.Med. 50, 99-113 (1977)

147 Schultz,S.G., R.A.Frizzell, H.N.Nellans: Ion transport by mammalian small intestine. Ann.Rev.Physiol. 36, 51-91 (1974)

148 Schultz,S.G., R.A.Frizzell, H.N.Nellans: Active sodium transport and the electrophysiology of rabbit colon. J.Membrane Biol. 33, 351-384 (1977)

149 Sharp,G.W.G., A.Leaf: Biological action of aldosterone in vitro. Nature 202, 1185-1188 (1964)

150 Sharp,G.W.G., A.Leaf: Effects of aldosterone and its mechanism of action on sodium transport. In: Handbook of Physiology, Section 8: Renal Physiology, Ed. J.Orloff, R.W.Berliner, 815-830 (1973)

151 Singer,B.: Further studies on the secretion of aldosterone by the rat adrenal gland. J.Endocrin. 19, 310-324 (1959)

152 Singer,S.J., G.L.Nicolson: The fluid mosaic model of the structure of cell membranes. Science 175, 720-731 (1972)

153 Sladen,G.E., A.M.Dawson: Effects of flow rate on the absorption of glucose in a steady state perfusion system in man. Clin.Sci. 36, 133-145 (1969)

154 Stackelberg W.F.von: Der Einfluß hydrostatischer Druckdifferenzen auf den aktiven Natriumtransport durch die Froschhaut. Pflügers Arch. 310, 128-136 (1969)

155 Starck,D.: Embryologie. Georg Thieme Verlag, Stuttgart, 3. Aufl. (1975)

156 Stolte,H., J.P.Brecht, M.Wiederholt, K.Hierholzer: Einfluß von Adrenalektomie und Glucocorticoiden auf die Wasserpermeabilität corticaler Nephronabschnitte der Rattenniere. Pflügers Arch. 299, 99-127 (1968)

157 Stoner,L.C., M.B.Burg, J.Orloff: Ion transport in cortical collecting tubule; effect of amiloride. Am.J.Physiol. 227: 453-459 (1974)

158 Taylor,R.E.: Cable Theory. In: W.L.Nastuk, Physical Techniques in Biological Research, Vol. VI, Electrophysiological Methods, Part B, 219-262 (1963)

159 Thompson,B.D., C.J.Edmonds: Comparison of effects of prolonged aldosterone administration on rat colon and renal electrolyte excretion. J.Endocrinol. 50, 163-169 (1971)

160 Uhlich,E., C.A.Baldamus, K.J.Ullrich: Einfluß von Aldosteron auf den Natriumtransport in den Sammelrohren der Säugetierniere. Pflügers Arch. 308, 111-126 (1969)

161 Ullrich,K.J.:"Anatomie" eines Epithels. Naturwissenschaften 60, 290-297 (1973)

162 Veit,K.: Der Einfluß von Amilorid und Mineralocorticoiden auf den Elektrolyttransport am Enddarm der Ratte. Med. Diss. Berlin (1975)

163 Vince,A., R.Bown, F.O'Grady, A.M.Dawson: The effect of perfusion on the flora of the excluded colon. Gut 14, 178-182 (1973)

164 Vogel,G., E.Meyering, I.Stoeckert: Gleichgewichtskonzentrationen einiger Plasma-Solute und Na-Absorption bei Erhöhung des Na-Angebotes durch Steigerung der Na-Angebotskonzentration oder des Perfusionsvolumens/Zeit im Jejunum und Colon von Ratten. Pflügers Arch. 310, 150-166 (1969)

165 Voûte,C.L., H.H.Ussing: Quantitative relation between hydrostatic pressure gradient, extracellular volume and active sodium transport in the epithelium of the frog skin (R. temporaria). Exp.Cell Res. 62, 375-383 (1970)

166 Wahl,M., G.Liebau, H.Fischbach, J.Schnermann: Balance between tubular flow rate and net fluid absorption in the proximal convolution of the rat kidney. Pflügers Arch. 304, 297-314 (1968)

167 Walser,M.: Reversible stimulation of sodium transport J. Clin. Invest. 48, 1714-1723 (1969)

168 Weinstein,S.W.: Micropuncture studies of the effects of acetazolamide on nephron function in the rat. Am.J. Physiol. 214: 222-227 (1968)

169 Wells,H.S.: The passage of materials through the intestinal wall. I. The relation between intra-intestinal pressure and the absorption of water. Am.J.Physiol. 99, 209-220 (1931)

170 Wiederholt,M., H.Stolte, J.P.Brecht, K.Hierholzer: Mikropunktionsuntersuchungen über den Einfluß von Aldosteron, Cortison und Dexamethason auf die renale Na-Resorption adrenalektomierter Ratten. Pflügers Arch. 292, 316-333 (1966)

171 Wiederholt,M., B.Wiederholt: Der Einfluß von Dexamethason auf die Wasser- und Elektrolytausscheidung adrenalektomierter Ratten. Pflügers Arch. 302, 57-78 (1968)

172 Wilson,T.H.: Fluid movement across the wall of the small intestine in vitro. Am.J.Physiol. 187, 244 (1956)

173 Wilson,F.A., J.M.Dietschy: The intestinal unstirred layer: Its surface area and effect on active transport kinetics. Biochim.Biophys.Acta. 363, 112-126 (1974)

174 Winne,D.: Der Einfluß einiger Pharmaka auf die Darmdurchblutung und die Resorption tritiummarkierten Wassers aus dem Dünndarm der Ratte. Naunyn-Schmiedebergs Arch. Pharmak. exp. Path. 254, 199-224 (1966)

175 Winne,D.: Unstirred layer thickness in perfused rat jejunum in vivo. Experientia 32, 1278-1279 (1976)

176 Wood,H.O.: The surface area of the intestinal mucosa in the rat and in the cat. J.Anatom. (London) 78, 103-105 (1944)

177 Woodhall,P.B., C.C.Tisher: Response of the distal tubule and cortical collecting duct to vasopressin in the rat. J.Clin.Invest. 52, 3095-3108 (1973)

178 Wright,F.S.: Increasing magnitude of electrical potential along the renal distal tubule. Am.J.Physiol. 220, 624-638 (1971)

179 Wright,F.S.: Sites and mechanisms of potassium transport along the renal tubule. Kidney Int. 11: 415-432 (1977)

180 Yau,W.M., G.M.Makhlouf: Comparison of transport mechanisms in isolated ascending and descending rat colon. Am.J.Physiol. 228, 191-195 (1975)

181 Ziegler,T.W., J.H.Ludens, D.D.Fanestil: Role of carbonic anhydrase in urinary acidication by the toad bladder. Am.J.Physiol. 227, 1132-1138 (1974)

8 LEBENSLAUF

Am 21.11.1945 wurde ich, Michael Alexander Fromm, in Berlin-Charlottenburg geboren. Meine Eltern sind der Augenoptiker Gerhard Fromm und seine Frau Liselotte. Von 1952 bis 1954 besuchte ich die 10. Grundschule, Berlin-Zehlendorf, von 1954 bis 1956 die 13. Grundschule, Berlin-Steglitz und von 1956 bis 1965 das neusprachliche Gymnasium Luisenstiftung, Berlin-Dahlem. Die Reifeprüfung legte ich im März 1965 ab. Anschließend studierte ich Humanmedizin an der Universität Würzburg (1 Semester) und an der Freien Universität Berlin. Im August 1972 bestand ich die Ärztliche Prüfung. Während der Medizinalassistentenzeit arbeitete ich zunächst in der Medizinischen Klinik des Klinikums Charlottenburg der FU auf einer allgemein-internistischen Station (Prof.Ruiz-Torres). Danach war ich im selben Haus in der Chirurgischen Klinik (Prof. Bücherl) auf einer Station für septisch Erkrankte und auf der Wachstation beschäftigt. Seit dem letzten Drittel meiner Medizinalassistentenzeit arbeitete ich im Institut für Klinische Physiologie der FU (Prof. Hierholzer) in der Arbeitsgruppe "Elektrophysiologie der Epithelien" (Prof. Hegel). Seit Februar 1975 bin ich als wiss. Assistent angestellt. Die Approbation als Arzt erhielt ich im Februar 1974.

An dieser Stelle danke ich folgenden Mitgliedern des Instituts für Klinische Physiologie für ihren Beitrag zum Gelingen der vorliegenden Arbeit:

Prof. Dr. K. Hierholzer gab wesentliche Anregungen im Verlauf der Experimente und hat die Arbeit kritisch durchgesehen.

Prof. Dr. Dr. U. Hegel hat - nicht zuletzt durch die Vergabe des Dissertationsthemas - einen wichtigen Arbeitsschwerpunkt in seiner Gruppe etabliert. Durch seine stete Diskussionsbereitschaft hat er die Arbeit in jeder Phase ihrer Entstehung gefördert und dadurch erst ermöglicht.
Sieglinde Lüderitz hatte wesentlichen Anteil an der Durchführung der Experimente und Analysen.

Jutta Konheiser zeichnete die Abbildungen.
Christa Richter fertigte die Reinschrift des Manuskriptes an.

Diese Arbeit wurde von der DFG (WI 328) gefördert.

DISSERTATIONSDRUCK WALTER MONATH
Wichurastr. 58c Tel. 030/77547 76/77 1 Berlin 46